202028460

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本　(11)公開編號：TW 202028460 A

(43)公開日： 中華民國 109 (2020) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：108135340　(22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 09 月 27 日

(51)Int. Cl.：　*C12N15/10* *(2006.01)*　*C12N9/04* *(2006.01)*

C12N15/52 *(2006.01)*

(30)優先權：2018/09/28　美國　62/738,956

2019/04/15　美國　62/834,334

2019/05/01　美國　62/841,740

(71)申請人：美商英特利亞醫療公司 (美國) INTELLIA THERAPEUTICS, INC.　(US)

美國

(72)發明人：岱美克　柴克瑞　威廉 DYMEK, ZACHARY WILLIAM (US)；歐德　書布 ODATE, SHOBU (US)；胡伯納　安妮特 HUEBNER, ANETTE (US)；斯里哈爾　斯里加尼 SRIDHAR, SRIJANI (IN)；莫雷　布萊德利　安德魯 MURRAY, BRADLEY ANDREW (US)；史瑞普斯　瓦特 STRAPPS, WALTER (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：216 項　圖式數：17　共 594 頁

(54)名稱

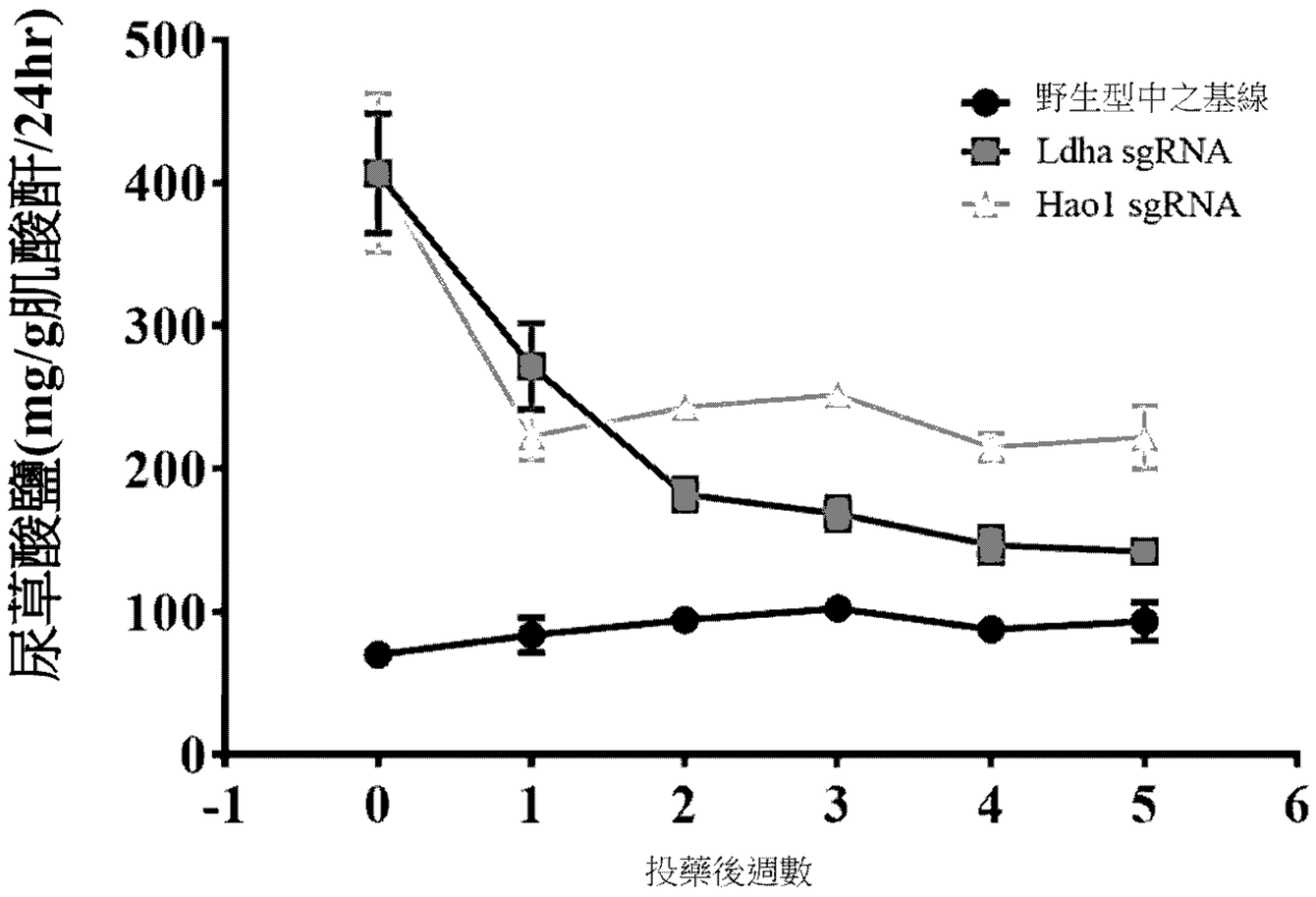
用於乳酸脫氫酶(LDHA)基因編輯之組合物及方法

(57)摘要

本發明提供用於在 LDHA 基因內進行編輯，例如引入雙鏈斷裂之組合物及方法。提供用於治療患有高草酸鹽尿症之個體之組合物及方法。

Compositions and methods for editing, e.g., introducing double-stranded breaks, within theLDHAgene are provided. Compositions and methods for treating subjects having hyperoxaluria are provided.

指定代表圖：


尿草酸鹽(mg/g肌酸酐/24hr)
500
400
300
200
100
0
-1
0
1
2
3
4
5
6
投藥後週數
野生型中之基線
Ldha sgRNA
Hao1 sgRNA

【圖5】

202028460

【發明摘要】

【中文發明名稱】

用於乳酸脫氫酶(LDHA)基因編輯之組合物及方法

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS AND METHODS FOR LACTATE DEHYDROGENASE (LDHA) GENE EDITING

【中文】

本發明提供用於在*LDHA*基因內進行編輯，例如引入雙鏈斷裂之組合物及方法。提供用於治療患有高草酸鹽尿症之個體之組合物及方法。

【英文】

Compositions and methods for editing, e.g., introducing double-stranded breaks, within the *LDHA* gene are provided. Compositions and methods for treating subjects having hyperoxaluria are provided.

【指定代表圖】

圖5

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於乳酸脫氫酶(LDHA)基因編輯之組合物及方法

【英文發明名稱】

COMPOSITIONS AND METHODS FOR LACTATE DEHYDROGENASE (LDHA) GENE EDITING

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 在患有高草酸鹽尿症之個體中，通常作為廢棄物由腎排出於尿中之草酸鹽有所升高。存在若干類型之高草酸鹽尿症，包含原發性高草酸鹽尿症、草酸鹽沈積症、腸高草酸鹽尿症及與食用高草酸鹽食物相關之高草酸鹽尿症。過量草酸鹽可與鈣組合以在腎及其他器官中形成草酸鈣。草酸鈣沈積物可導致廣泛沈積草酸鈣(腎鈣質沉著症)或形成腎結石及膀胱結石(尿路結石症)且引起腎損害。高草酸鹽尿症中之常見腎併發症包含血尿(血尿症)、泌尿道感染、腎損害及晚期腎病(ESRD)。隨時間變化，高草酸鹽尿症患者之腎可能開始衰竭，且血液中之草酸鹽含量可能有所升高。全身組織中之草酸鹽沈積(例如全身性草酸鹽沈積症)可因高草酸鹽血液含量而發生且可至少在骨、心臟、皮膚及眼睛中引起併發症。腎衰竭可發生於任一年齡(包含兒童)，尤其發生於患有高草酸鹽尿症之個體中。腎透析或腎/肝雙重器官移植係僅有之治療選擇。

【0002】 原發性高草酸鹽尿症(PH)係影響自嬰兒至老人之所有年齡個體之罕見遺傳病症。PH包含三個亞型，該等亞型涉及改變三

種不同蛋白質之表現之遺傳缺陷。PH1涉及丙胺酸-乙醛酸胺基轉移酶或AGT/AGT1。PH2涉及乙醛酸/羥基丙酮酸還原酶或GR/HPR，且PH3涉及4-羥基-2-側氧基戊二酸醛縮酶或HOGA。在PH1中，突變發現於由AGXT基因編碼之酶丙胺酸乙醛酸胺基轉移酶(AGT或AGT1)中。通常，AGT在肝過氧化物酶體中將乙醛酸鹽轉化成甘胺酸。在PH1患者中，突變AGT不能分解乙醛酸鹽，且乙醛酸鹽及其代謝物草酸鹽之含量有所增加。人類不能氧化草酸鹽，且PH1個體中之高草酸鹽含量會引起高草酸鹽尿症。

【0003】 為測定個體是否患有高草酸鹽尿症，可收集24-小時尿且量測草酸鹽、羥基乙酸鹽及其他有機酸之含量。可實施遺傳測試或肝生檢以用於確定性診斷高草酸鹽尿症之遺傳形式。例如參見Cochat P等人(2012) Nephrol Dial Transplant 5:1729-36。在正常健康個體中，24-小時尿草酸鹽及羥基乙酸鹽含量小於45 mg/天，但在高草酸鹽尿症患者中，尿草酸鹽含量通常大於100 mg/天。例如參見Cochat P. (2013). N Engl J Med 369:649-658。

【0004】 正常個體中之血漿羥基乙酸鹽含量通常為4-8微莫耳濃度，但在高草酸鹽尿症患者中，羥基乙酸鹽含量可具有較寬範圍且在2/3之高草酸鹽尿症個體中有所升高。例如參見Marangella等人(1992) J. Urol. 148:986-989。儘管大部分患有遺傳形式之高草酸鹽尿症之患者當前係經由遺傳測試來診斷，但24-小時尿測試係用於追蹤高草酸鹽尿症個體之治療反應之主要方法(同上)。

【0005】 乳酸脫氫酶(LDH)係發現於幾乎每一細胞中之酶，其調控乳酸鹽及丙酮酸鹽之穩態以及乙醛酸鹽及草酸鹽之代謝。LDH

包括形成四聚體之4個多肽。已鑑別出5種LDH同工酶，其區別在於其亞單元組成及組織分佈。兩種最常見形式之LDH係由*LDHA*基因編碼之肌肉(M)形式及由*LDHB*基因編碼之心臟(H)形式。在肝細胞之過氧化物酶體中，LDH係負責將乙醛酸鹽轉化成草酸鹽之關鍵酶，草酸鹽然後分泌至血漿中並由腎排泄。Lai等人(2018) Mol Ther. 26(8):1983-1995。

【0006】草酸鹽產生之增加導致草酸鈣晶體沈澱於腎中且引起腎病。隨著高草酸鹽尿症之進展，草酸鹽沈積於所有組織中。具有遺傳性乳酸脫氫酶M亞單元缺陷之個體不顯示肝功能損傷或肝特異性表型，從而表明抑制或減弱肝乳酸脫氫酶(LDH) (所提出負責將乙醛酸鹽轉化成草酸鹽之關鍵酶)之表現量可防止草酸鹽累積於高草酸鹽尿症個體中且並無由乳酸脫氫酶M亞單元損失所致之不良效應。此假設已測試於經遺傳改造之鼠類高草酸鹽尿症模型及使用乙二醇(EG)以化學方式誘導高草酸鹽尿症之鼠類模型中。參見Kanno, T等人(1988) Clin. Chim. Acta 173, 89-98；Takahashi, Y等人(1995) Intern. Med. 34, 326-329；及Tsujino, S等人(1994) Ann. Neurol. 36, 661-665。

【0007】因LDH係草酸鹽產生之最終步驟中之關鍵，故使用經由與N-乙醯基半乳糖胺(GalNAc)殘基偶聯來指向肝細胞之LDHA siRNA來調介小鼠高草酸鹽尿症模型中之*LDHA*沉默。參見Lai等人(2018) Mol Ther. 26(8):1983-1995。使用此LDHA siRNA治療小鼠可減少肝LDH並有效還原草酸鹽且防止草酸鈣晶體沈積於經遺傳改造之小鼠高草酸鹽尿症模型及以化學方式誘導之高草酸鹽尿症小鼠模型中(同上)。小鼠中之抑制肝LDH並不引起循環肝酶急性升高、乳酸

酸中度或勞力性肌病變。

【0008】 藉由抑制LDHA來治療高草酸鹽尿症患者之觀點進一步由非人類靈長類動物及人類化嵌合小鼠(其中肝包括高達80%之人類肝細胞)之LDHA siRNA治療來證實(同上)。

【0009】 因此，提供下列實施例。在一些實施例中，本發明提供使用嚮導RNA與RNA引導之DNA結合劑(例如CRISPR/Cas系統)之組合物及方法，該系統可實質上減小或敲除*LDHA*基因表現，由此實質上減小或消除LDH產生，由此減少尿草酸鹽且增加血清羥基乙酸鹽。經由改變*LDHA*基因來實質上減小或消除LDH產生可用於長期或永久性治療高草酸鹽尿症。

【發明內容】

【0010】 提供下列實施例。

實施例01一種誘導*LDHA*基因內之雙鏈斷裂(DSB)或單鏈斷裂(SSB)之方法，其包括向細胞遞送一種組合物，其中該組合物包括：

a. 嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導

序列；或

v.包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b.RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸。

實施例02一種減小*LDHA*基因表現之方法，其包括向細胞遞送一種組合物，其中該組合物包括：

a.嚮導RNA，其包括

i.選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v.包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中

之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b. RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸。

實施例03一種治療或預防高草酸鹽尿症之方法，其包括向有需要之個體投與一種組合物，其中該組合物包括：

a. 嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v. 包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、

45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b.RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸，由此治療或預防高草酸鹽尿症。

實施例04一種治療或預防由高草酸鹽尿症引起之晚期腎病(ESRD)之方法，其包括向有需要之個體投與一種組合物，其中該組合物包括：

a.嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v.包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、

123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b.RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸，由此治療或預防由高草酸鹽尿症引起之(ESRD)。

實施例05一種治療或預防草酸鈣產生及沈積、原發性高草酸鹽尿症(包含PH1、PH2及PH3)、草酸鹽沈積症、血尿症、腸高草酸鹽尿症、與食用高草酸鹽食物相關之高草酸鹽尿症中之任一者及延遲或改善腎或肝移植需要之方法，其包括向有需要之個體投與一種組合物，其中該組合物包括：

a.嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v.包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、

45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b.RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸，由此治療或預防草酸鈣產生及沈積、原發性高草酸鹽尿症、草酸鹽沈積症、血尿症中之任一者及延遲或改善腎或肝移植需要。

實施例06一種增加血清羥基乙酸鹽濃度之方法，其包括向有需要之個體投與一種組合物，其中該組合物包括：

a. 嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v. 包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、

123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b.RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸，由此增加血清羥基乙酸鹽濃度。

實施例07一種減少個體之尿中之草酸鹽之方法，其包括向有需要之個體投與一種組合物，其中該組合物包括：

a.嚮導RNA，其包括

i.選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v.包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、

45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b.RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸，由此減少個體之尿中之草酸鹽。

實施例08如前述實施例中任一項之方法，其中投與RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸。

實施例09一種組合物，其包括：

a.嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v.包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b.RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸。

實施例10一種組合物，其包括含有以下之短單嚮導RNA (短-sgRNA)：

a.嚮導序列，其包括：

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列中之任一者；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列中之任一者之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致；或

iv. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者；或

v. SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及

b.包括髮夾區之sgRNA之保守部分，其中該髮夾區至少缺失5至10個核苷酸且視情況其中該短-sgRNA包括5’端修飾及3’端修飾中之一或多者。

實施例11 如實施例10之組合物，其包括SEQ ID NO: 202之序

列。

實施例12如實施例10或11之組合物，其包括5’端修飾。

實施例13如實施例10至12中任一項之組合物，其中該短-sgRNA包括3’端修飾。

實施例14如實施例10至13中任一項之組合物，其中該短-sgRNA包括5’端修飾及3’端修飾。

實施例15如實施例10至14中任一項之組合物，其中該短-sgRNA包括3’尾部。

實施例16如實施例15之組合物，其中該3’尾部包括1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸。

實施例17如實施例15之組合物，其中該3’尾部包括約1至2、1至3、1至4、1至5、1至7、1至10、至少1至2、至少1至3、至少1至4、至少1至5、至少1至7或至少1至10個核苷酸。

實施例18如實施例10至17中任一項之組合物，其中該短-sgRNA不包括3’尾部。

實施例19如實施例10至18中任一項之組合物，其包括該髮夾區中之修飾。

實施例20如實施例10至19中任一項之組合物，其包括3’端修飾及該髮夾區中之修飾。

實施例21如實施例10至20中任一項之組合物，其包括3’端修飾、該髮夾區中之修飾及5’端修飾。

實施例22如實施例10至21中任一項之組合物，其包括5’端修飾及該髮夾區中之修飾。

實施例23如實施例10至22中任一項之組合物，其中該髮夾區至少缺失5個連續核苷酸。

實施例24如實施例10至23中任一項之組合物，其中該至少5至10個缺失的核苷酸：

a. 位於髮夾1內；

b. 位於髮夾1內且包含髮夾1與髮夾2之間之「N」；

c. 位於髮夾1內且包含緊接髮夾1之3’的兩個核苷酸；

d. 包含髮夾1之至少一部分；

e. 位於髮夾2內；

f. 包含髮夾2之至少一部分；

g. 位於髮夾1及髮夾2內；

h. 包含髮夾1之至少一部分且包含髮夾1與髮夾2之間之「N」；

i. 包含髮夾2之至少一部分且包含髮夾1與髮夾2之間之「N」；

j. 包含髮夾1之至少一部分，包含髮夾1與髮夾2之間之「N」且包含髮夾2之至少一部分；

k. 位於髮夾1或髮夾2內，視情況包含髮夾1與髮夾2之間之「N」；

l. 係連續的；

m. 係連續的且包含髮夾1與髮夾2之間之「N」；

n. 係連續的且跨越髮夾1之至少一部分及髮夾2之一部分；

o. 係連續的且跨越髮夾1之至少一部分及髮夾1與髮夾2之間之「N」；

p. 係連續的且跨越髮夾1之至少一部分及緊接髮夾1之3’之兩個

核苷酸；

q. 由5至10個核苷酸組成；

r. 由6至10個核苷酸組成；

s. 由5至10個連續核苷酸組成；

t. 由6至10個連續核苷酸組成；或

u. 由SEQ ID NO: 400之核苷酸54至58組成。

實施例25如實施例10至24中任一項之組合物，其包括含有連接區之sgRNA之保守部分，其中該連接區至少缺失一個核苷酸。

實施例26如實施例25之組合物，其中該連接區中缺失之該等核苷酸包括以下中之任一者或多者：

a. 該連接區中之至少2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸；

b. 該連接區中之至少或確切地1至2個核苷酸、1至3個核苷酸、1至4個核苷酸、1至5個核苷酸、1至6個核苷酸、1至10個核苷酸或1至15個核苷酸；及

c. 該連接區中之每一核苷酸。

實施例27一種組合物，其包括含有以下之經修飾單嚮導RNA (sgRNA)：

a. 嚮導序列，其包括：

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列中之任一者；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列中之任一者之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致；或

iv. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者；或

v. SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者；或

vi. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者；或

vii. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者；且進一步包括

b.一或多個選自以下之修飾：

1.位於一或多個響導區YA位點處之YA修飾；

2.位於一或多個保守區YA位點處之YA修飾；

3.位於一或多個響導區YA位點處及一或多個保守區YA位點處之YA修飾；

4.i)位於兩個或更多個響導區YA位點處之YA修飾；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

iii)位於保守區YA位點1及8中之一或多者處之YA修飾；或

5.i)位於一或多個響導區YA位點處之YA修飾，其中該響導區YA位點位於5’末端之5’端之核苷酸8處或其後；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及視情況；

iii)位於保守區YA位點1及8中之一或多者處之YA修飾；或

6.i)位於一或多個鄰導區YA位點處之YA修飾，其中該鄰導區YA位點位於該鄰導區之3’末端核苷酸之13個核苷酸內；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

iii)位於保守區YA位點1及8中之一或多者處之YA修飾；或

7.i) 5’端修飾及3’端修飾；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

iii)位於保守區YA位點1及8中之一或多者處之YA修飾；或

8.i)位於鄰導區YA位點處之YA修飾，其中該鄰導區YA位點之該修飾包括位於該鄰導區YA位點之5’處之至少一個核苷酸所不包括之修飾；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

iii)位於保守區YA位點1及8中之一或多者處之YA修飾；或

9.i)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

ii)位於保守區YA位點1及8處之YA修飾；或

10. i)位於一或多個鄰導區YA位點處之YA修飾，其中該YA位點位於5’末端之核苷酸8處或其後；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

iii)位於H1-1及H2-1中之一或多者處之修飾；或

11. i)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；

ii)位於保守區YA位點1、5、6、7、8及9中之一或多者處之YA修飾；及

iii)位於H1-1及H2-1中之一或多者處之修飾；或

12. i)位於一或多個位於5’末端之核苷酸6處或其後之核苷酸處之修飾，例如YA修飾；

ii)位於一或多個嚮導序列YA位點處之YA修飾；

iii)位於B3、B4及B5中之一或多者處之修飾，其中B6不包括2’-OMe修飾或包括除2’-OMe外之修飾；

iv)位於LS10處之修飾，其中LS10包括除2’-氟外之修飾；及/或

v)位於N2、N3、N4、N5、N6、N7、N10或N11處之修飾；且

其中下列中之至少一者係真實的：

i. 位於一或多個嚮導區YA位點處之YA修飾；

ii. 位於一或多個保守區YA位點處之YA修飾；

iii. 位於一或多個嚮導區YA位點處及一或多個保守區YA位點處之YA修飾；

iv. 5’末端之5’端之核苷酸8至11、13、14、17或18中之至少一者不包括2’-氟修飾；

v. 5’末端之5’端之核苷酸6至10中之至少一者不包括硫代磷酸酯鍵聯；

vi. B2、B3、B4或B5中之至少一者不包括2’-OMe修飾；

vii. LS1、LS8或LS10中之至少一者不包括2’-OMe修飾；

viii. N2、N3、N4、N5、N6、N7、N10、N11、N16或N17中之至少一者不包括2’-OMe修飾；

ix. H1-1包括修飾；

x. H2-1包括修飾；或

xi. H1-2、H1-3、H1-4、H1-5、H1-6、H1-7、H1-8、H1-9、H1-10、H2-1、H2-2、H2-3、H2-4、H2-5、H2-6、H2-7、H2-8、H2-9、H2-10、H2-11、H2-12、H2-13、H2-14或H2-15中之至少一者不包括硫代磷酸酯鍵聯。

實施例28如實施例27之組合物，其包括SEQ ID NO: 450。

實施例29如實施例9至28中任一項之組合物，其用於誘導細胞或個體中之*LDHA*基因內之雙鏈斷裂(DSB)或單鏈斷裂(SSB)。

實施例30如實施例9至28中任一項之組合物，其用於減小細胞或個體中之*LDHA*基因表現。

實施例31如實施例9至28中任一項之組合物，其用於治療或預防個體之高草酸鹽尿症。

實施例32如實施例9至28中任一項之組合物，其用於增加個體中之血清及/或血漿羥基乙酸鹽濃度。

實施例33如實施例9至28中任一項之組合物，其用於減小個體中之尿草酸鹽濃度。

實施例34如實施例9至28中任一項之組合物，其用於治療或預防草酸鹽產生、器官中草酸鈣沈積、原發性高草酸鹽尿症、草酸鹽沈積症(包含全身性草酸鹽沈積症)、血尿症、晚期腎病(ESRD)及/或延遲或改善腎或肝移植需要。

實施例35如實施例1至8中任一項之方法，其進一步包括：

a. 誘導細胞或個體中之*LDHA*基因內之雙鏈斷裂(DSB)；

b. 減小細胞或個體中之*LDHA*基因表現；

c. 治療或預防個體之高草酸鹽尿症；

d. 治療或預防個體之原發性高草酸鹽尿症；

e. 治療或預防個體之PH1、PH2及/或PH3；

f. 治療或預防個體之腸高草酸鹽尿症；

g. 治療或預防個體之與食用高草酸鹽食物相關之高草酸鹽尿症；

h. 增加個體中之血清及/或血漿羥基乙酸鹽濃度；

i. 減小個體中之尿草酸鹽濃度；

j. 減小草酸鹽產生；

k. 減小器官中之草酸鈣沈積；

l. 減少高草酸鹽尿症；

m. 治療或預防草酸鹽沈積症(包含全身性草酸鹽沈積症)；

n. 治療或預防血尿症；

o. 預防晚期腎病(ESRD)；及/或

p. 延遲或改善腎或肝移植需要。

實施例36如實施例1至8或29至35中任一項所用之方法或組合物，其中該組合物增加了血清及/或血漿羥基乙酸鹽含量。

實施例37如實施例1至8或29至35中任一項所用之方法或組合物，其中該組合物引起該*LDHA*基因之編輯。

實施例38如實施例37所用之方法或組合物，其中該編輯計算為

經編輯群體之百分比(編輯百分比)。

實施例39如實施例38所用之方法或組合物，其中該編輯百分比介於該群體之30%與99%之間。

實施例40如實施例38所用之方法或組合物，其中該編輯百分比介於該群體之30%與35%、35%與40%、40%與45%、45%與50%、50%與55%、55%與60%、60%與65%、65%與70%、70%與75%、75%與80%、80%與85%、85%與90%、90%與95%或95%與99%之間。

實施例41如實施例1至8或29至35中任一項所用之方法或組合物，其中該組合物減小了尿草酸鹽濃度。

實施例42如實施例41所用之方法或組合物，其中減少尿草酸鹽可降低腎結石及/或腎、肝、膀胱、心臟、皮膚或眼睛中之草酸鈣沈積。

實施例43如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列係選自

a. SEQ ID NO:1-84及100-192；

b. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80；

c. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48；

d. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184；及

e. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、

103及123。

實施例44如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中該組合物包括含有以下之sgRNA：

a. SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081中之任一者；或

b. SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中之任一者；或

c. 選自SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80之嚮導序列；或

d. 選自SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48之嚮導序列；

e. 選自SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184之嚮導序列；及

f. 選自SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123之嚮導序列。

實施例45如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中該靶序列位於人類*LDHA*基因之外顯子1至8中之任一者中。

實施例46如實施例45之方法或組合物，其中該靶序列位於該人類*LDHA*基因之外顯子1或2中。

實施例47如實施例45之方法或組合物，其中該靶序列位於該人

類*LDHA*基因之外顯子3中。

實施例48如實施例45之方法或組合物，其中該靶序列位於該人類*LDHA*基因之外顯子4中。

實施例49如實施例45之方法或組合物，其中該靶序列位於該人類*LDHA*基因之外顯子5或6中。

實施例50如實施例45之方法或組合物，其中該靶序列位於該人類*LDHA*基因之外顯子7或8中。

實施例51如實施例1至50中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列與*LDHA*之正鏈中之靶序列互補。

實施例52如實施例1至50中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列與*LDHA*之負鏈中之靶序列互補。

實施例53如實施例1至50中任一項之方法或組合物，其中第一嚮導序列與該*LDHA*基因之正鏈中之第一靶序列互補，且其中該組合物進一步包括與該*LDHA*基因之負鏈中之第二靶序列互補之第二嚮導序列。

實施例54如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA包括選自SEQ ID NO 1-84及100-192中之任一者之嚮導序列且進一步包括SEQ ID NO: 200之核苷酸序列，其中SEQ ID NO: 200之核苷酸接在該嚮導序列之3’端之後。

實施例55如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA包括選自SEQ ID NO 1-84及100-192中之任一者之嚮導序列且進一步包括SEQ ID NO: 201、SEQ ID NO: 202、SEQ ID NO: 203或SEQ ID NO: 400-450中之任一者之核苷酸序列，其中SEQ ID NO:

201、SEQ ID NO: 202或SEQ ID NO: 203之核苷酸接在該嚮導序列之3’端之後。

實施例56如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係單嚮導(sgRNA)。

實施例57如實施例56之方法或組合物，其中該sgRNA包括含有SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081中之任一者之嚮導序列。

實施例58如實施例56之方法或組合物，其中該sgRNA包括SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081中之任一者或其經修飾形式，視情況其中該等經修飾形式包括SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081。

實施例59如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中根據SEQ ID NO: 300之模式來修飾該嚮導RNA，其中N共同地係表1中之任一嚮導序列(SEQ ID NO 1-84及100-192)。

實施例60如實施例59之方法或組合物，其中SEQ ID NO: 300中之每一N係任一天然或非天然核苷酸，其中該等N形成嚮導序列，且該嚮導序列使Cas9靶向該*LDHA*基因。

實施例61如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中該sgRNA包括SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列及SEQ ID NO:

201、SEQ ID NO: 202或SEQ ID NO: 203之核苷酸中之任一者。

實施例62如實施例56至61中任一項之方法或組合物，其中該sgRNA包括與選自SEQ ID NO: 1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列。

實施例63如實施例62之方法或組合物，其中該sgRNA包括選自SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079、1081、2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081之序列。

實施例64如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA包括至少一種修飾。

實施例65如實施例64之方法或組合物，其中該至少一種修飾包含經2'-O-甲基(2'-O-Me)修飾之核苷酸。

實施例66如實施例64或65之方法或組合物，其包括核苷酸之間之硫代磷酸酯(PS)鍵。

實施例67如實施例64至66中任一項之方法或組合物，其包括經2'-氟(2'-F)修飾之核苷酸。

實施例68如實施例64至67中任一項之方法或組合物，其包括位於該嚮導RNA之5'端處之前5個核苷酸中之一或多者處之修飾。

實施例69如實施例64至68中任一項之方法或組合物，其包括位於該嚮導RNA之3’端處之後5個核苷酸中之一或多者處之修飾。

實施例70如實施例64至69中任一項之方法或組合物，其包括位於該嚮導RNA之前4個核苷酸之間之PS鍵。

實施例71如實施例64至70中任一項之方法或組合物，其包括位於該嚮導RNA之後4個核苷酸之間之PS鍵。

實施例72如實施例64至71中任一項之方法或組合物，其包括位於該嚮導RNA之5’端之前三個核苷酸處之經2’-O-Me修飾之核苷酸。

實施例73 如實施例64至72中任一項之方法或組合物，其在該嚮導RNA之3’端之後三個核苷酸處包括經2’-O-Me修飾之核苷酸。

實施例74如實施例64至73中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA包括SEQ ID NO: 300之經修飾核苷酸。

實施例75如實施例1至74中任一項之方法或組合物，其中該組合物進一步包括醫藥上可接受之賦形劑。

實施例76如實施例1至75中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA與脂質奈米顆粒(LNP)締合。

實施例77如實施例76之方法或組合物，其中該LNP包括陽離子脂質。

實施例78如實施例77之方法或組合物，其中該陽離子脂質係(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯酸3-((4,4-雙(辛基氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙酯((9Z,12Z)-3-((4,4-bis(octyloxy)butanoyl)oxy)-2-((((3-(diethylamino)propoxy)carbonyl)oxy)methyl)propyl octadeca-9,12-

dienoate ， 亦 稱 為 3-((4,4-bis(octyloxy)butanoyl)oxy)-2-((((3-(diethylamino)propoxy)carbonyl)oxy)methyl)propyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate)。

實施例79如實施例76至78中任一項之方法或組合物，其中該LNP包括中性脂質。

實施例80如實施例79之方法或組合物，其中該中性脂質係DSPC。

實施例81如實施例76至80中任一項之方法或組合物，其中該LNP包括輔助脂質。

實施例82如實施例81之方法或組合物，其中該輔助脂質係膽固醇。

實施例83如實施例76至82中任一項之方法或組合物，其中該LNP包括隱形脂質。

實施例84如實施例83之方法或組合物，其中該隱形脂質係PEG2k-DMG。

實施例85如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中該組合物進一步包括RNA引導之DNA結合劑。

實施例86如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中該組合物進一步包括編碼RNA引導之DNA結合劑之mRNA。

實施例87如實施例85或86之方法或組合物，其中該RNA引導之DNA結合劑係Cas9。

實施例88如前述實施例中任一項之方法或組合物，其中該組合物係醫藥調配物且進一步包括醫藥上可接受之載劑。

實施例89如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 1。

實施例90如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 2。

實施例91如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 3。

實施例92如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 4。

實施例93如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 5。

實施例94如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 6。

實施例95如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 7。

實施例96如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 8。

實施例97如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 9。

實施例98如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 10。

實施例99如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 11。

實施例100　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該

選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 12。

實施例101　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 13。

實施例102　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 14。

實施例103　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 15。

實施例104　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 16。

實施例105　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 17。

實施例106　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 18。

實施例107　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 19。

實施例108　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 20。

實施例109　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 21。

實施例110　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 22。

實施例111　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 23。

實施例112　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 24。

實施例113　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 25。

實施例114　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 26。

實施例115　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 27。

實施例116　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 28。

實施例117　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 29。

實施例118　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 30。

實施例119　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 31。

實施例120　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 32。

實施例121　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 33。

實施例122　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 34。

實施例123　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該

選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 35。

實施例124　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 36。

實施例125　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 37。

實施例126　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 38。

實施例127　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 39。

實施例128　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 40。

實施例129　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 41。

實施例130　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 42。

實施例131　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 43。

實施例132　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 44。

實施例133　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 45。

實施例134　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 46。

實施例135　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 47。

實施例136　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 48。

實施例137　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 49。

實施例138　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 50。

實施例139　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 51。

實施例140　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 52。

實施例141　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 53。

實施例142　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 54。

實施例143　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 55。

實施例144　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 56。

實施例145　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 57。

實施例146　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該

選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 58。

實施例147　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 59。

實施例148　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 60。

實施例149　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 61。

實施例150　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 62。

實施例151　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 63。

實施例152　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 64。

實施例153　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 65。

實施例154　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 66。

實施例155　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 67。

實施例156　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 68。

實施例157　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 69。

實施例158　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 70。

實施例159　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 71。

實施例160　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 72。

實施例161　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 73。

實施例162　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 74。

實施例163　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 75。

實施例164　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 76。

實施例165　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 77。

實施例166　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 78。

實施例167　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 79。

實施例168　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 80。

實施例169　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該

選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 81。

實施例170　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 82。

實施例171　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 83。

實施例172　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 84。

實施例173　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 103。

實施例174　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 109。

實施例175　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 123。

實施例176　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 133。

實施例177　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 149。

實施例178　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 156。

實施例179　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 166。

實施例180　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列包括SEQ ID NO: 2、9、13、16、22、24、25、27、30、

31、32、33、35、36、40、44、45、53、55、57、60、61-63、65、67、69、70、71、73、76、78、79、80、82-84、103、109、123、133、149、156及166中之任一者。

實施例181　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列包括SEQ ID NO: 100-102、104-108、110-122、124-132、134-148、150-155、157-165及167-192中之任一者。

實施例182　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者。

實施例183　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者。

實施例184　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 86-90中之任一者之sgRNA。

實施例185　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 89之sgRNA。

實施例186　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1001或2001之sgRNA。

實施例187　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1005或2005之sgRNA。

實施例188　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1007或2007之sgRNA。

實施例189　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1008或2008之sgRNA。

實施例190　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1014或2014之sgRNA。

實施例191　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1023或2023之sgRNA。

實施例192　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1027或2027之sgRNA。

實施例193　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1032或2032之sgRNA。

實施例194　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1045或2045之sgRNA。

實施例195　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1048或2048之sgRNA。

實施例196　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1063或2063之sgRNA。

實施例197　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1067或2067之sgRNA。

實施例198　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1069或2069之sgRNA。

實施例199　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1071或2071之sgRNA。

實施例200　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該

嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1074或2074之sgRNA。

實施例201　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1076或2076之sgRNA。

實施例202　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1077或2077之sgRNA。

實施例203　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1078或2078之sgRNA。

實施例204　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1079或2079之sgRNA。

實施例205　如實施例1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1081或2081之sgRNA。

實施例206　如實施例1至205中任一項之方法或組合物，其中該組合物係以單一劑量形式來投與。

實施例207　如實施例1至206中任一項之方法或組合物，其中一次性投與該組合物。

實施例208　如實施例206或207中任一項之方法或組合物，其中該單一劑量或一次性投與：

a. 誘導DSB；及/或

b. 減小*LDHA*基因表現；及/或

c. 治療或預防高草酸鹽尿症；及/或

d. 治療或預防由高草酸鹽尿症引起之ESRD；及/或

e. 治療或預防草酸鈣產生及沈積；及/或

f. 治療或預防原發性高草酸鹽尿症(包含PH1、PH2及PH3)；及/

或

g. 治療或預防草酸鹽沈積症；及/或

h. 治療及預防血尿症；及/或

i. 治療或預防腸高草酸鹽尿症；及/或

j. 治療或預防與食用高草酸鹽食物相關之高草酸鹽尿症；及/或

k. 延遲或改善腎或肝移植需要；及/或

l. 增加血清羥基乙酸鹽濃度；及/或

m. 減少尿中之草酸鹽。

實施例209 如實施例208之方法或組合物，其中該單一劑量或一次性投與達成a)至m)中之任一者或多者3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15週。

實施例210 如實施例208之方法或組合物，其中該單一劑量或一次性投與達成持久效應。

實施例211 如實施例1至208中任一項之方法或組合物，其進一步包括達成持久效應。

實施例212 如實施例210或211之方法或組合物，其中該持久效應持續至少1個月、至少3個月、至少6個月、至少一年或至少5年。

實施例213 如實施例1至212中任一項之方法或組合物，其中投與該組合物使得尿中之草酸鹽治療相關性地減少。

實施例214 如實施例1至213中任一項之方法或組合物，其中投與該組合物使得尿草酸鹽含量在治療範圍內。

實施例215 如實施例1至214中任一項之方法或組合物，其中

投與該組合物使得草酸鹽含量在正常範圍之100%、120%或150%內。

實施例216　一種如實施例9至215中任一項之組合物或調配物之用途，其用以製備用於治療患有高草酸鹽尿症之人類個體之藥劑。

【0011】 亦揭示如前述實施例中任一項之組合物或調配物之用途，其用以製備用於治療患有高草酸鹽尿症之人類個體之藥劑。亦揭示前述組合物或調配物中之任一者，其用於治療高草酸鹽尿症或用於修飾(例如形成插入缺失或形成框移或無義突變) *LDHA*基因。

【圖式簡單說明】

【0012】 圖1展示某些靶向*LDHA*之sgRNA之脫靶分析。

【0013】 圖2展示某些靶向*LDHA*之sgRNA在PHH中之編輯%之劑量反應曲線。

【0014】 圖3展示某些靶向*LDHA*之sgRNA在PCH中之編輯%之劑量反應曲線。

【0015】 圖4展示靶向LDHA之經修飾sgRNA (列示於表2中)在PHH中之西方印漬分析(Western Blot analysis)。

【0016】 圖5展示在使用包括經修飾sgRNA之LNP治療之後AGT缺陷型小鼠中之活體內尿草酸鹽含量。

【0017】 圖6展示在15-週研究中使用包括經修飾sgRNA之LNP治療之後AGT缺陷型小鼠中之活體內尿草酸鹽含量。

【0018】 圖7展示在15-週研究中使用包括經修飾sgRNA之LNP治療之後AGT缺陷型小鼠中之活體內西方印漬分析。

【0019】 圖8展示AGT缺陷型小鼠之肝中之LDHA蛋白之活體

內免疫組織化學染色。

【0020】 圖9展示表19中所繪示之編輯與蛋白質含量之間之相關性。

【0021】 圖10標記實例性sgRNA序列(SEQ ID NO: 2082)中之10個保守區YA位點(1至10)。數字25、45、50、56、64、67及83指示具有嚮導區(指示為(N)x，例如其中x視情況為20)之sgRNA中之YA位點1、5、6、7、8、9及10之嘧啶位置。

【0022】 圖11展示實例性sgRNA (SEQ ID NO: 401；並不展示所有修飾)之可能二級結構，該二級結構具有指定sgRNA之保守區之個別核苷酸之標記且包含下莖區、突起區、上莖區、連接區(其核苷酸可沿5'至3'方向分別稱為N1至N18)、髮夾區1及髮夾區2。髮夾1與髮夾2之間之核苷酸標記為n。嚮導區可存在於sgRNA上且在此圖中指示為「(N)x」(位於sgRNA之保守區之前)。

【0023】 圖12A-12C展示某些靶向*LDHA*之sgRNA在原代食蟹猴肝細胞中之編輯百分比之劑量反應曲線。

【0024】 圖13A-13B展示在包括某些sgRNA之脂轉染處理之後原代人類及食蟹猴肝細胞中之LDHA表現相對減小的劑量反應曲線。

【0025】 圖14A-14C分別展示在使用包括某一sgRNA之LNP治療AGT缺陷型小鼠之後之劑量依賴性尿草酸鹽含量、編輯百分比及尿草酸鹽含量與編輯百分比之間的相關性。

【0026】 圖15A-15B展示在15-週持久性研究中使用包括某一sgRNA之LNP治療AGT缺陷型小鼠之後肝及肌肉試樣中之LDHA活性，如實例4中所闡述。

【0027】 圖16A-16B展示在15-週持久性研究中使用包括某一sgRNA之LNP治療AGT缺陷型小鼠之後肝及血漿試樣中之丙酮酸鹽含量，如實例4中所闡述。

【0028】 圖17展示經受5/6腎切除術或假手術之小鼠在使用包括某一sgRNA之LNP治療之後之平均血漿乳酸鹽清除功能。

【實施方式】

【0029】 本申請案主張下列申請案之優先權權益：2018年9月28日提出申請之美國臨時專利申請案第62/738,956號、2019年4月15日提出申請之美國臨時專利申請案第62/834,334號及2019年5月1日提出申請之美國臨時專利申請案第62/841,740號，其中之每一者之全部內容之內容出於所有目的以引用方式併入本文中。

【0030】 現在將詳細參考本發明之某些實施例，在附圖中圖解說明該等實施例之實例。儘管將結合所闡釋實施例來闡述本發明，但應理解，該等實施例並不意欲將本發明限於彼等實施例。與之相反，本發明意欲涵蓋如由隨附申請專利範圍及所包含實施例所界定之本發明內可包含之所有替代、修改及等效形式。

【0031】 在詳細闡述本發明教示內容之前，應理解，本發明並不限於特定組合物或製程步驟，此乃因該等要素可有所變化。應注意，除非上下文另外明確指示，否則本說明書及隨附申請專利範圍中所用之單數形式「一(a、an)」及「該(the)」包含複數個指示物。因此，舉例而言，所提及「偶聯物」包含複數個偶聯物且所提及「細胞」包含複數個細胞，及諸如此類。

【0032】 數字範圍包含界定該範圍之數字。所量測及可量測值

應理解為係近似值，且考慮有效數字及與量測有關之誤差。同樣，「包括(comprise、comprises、comprising)」、「含有(contain、contains、containing)」、「包含(include、includes及including)」在使用時並不意欲加以限制。應理解，前述一般說明及詳細說明二者僅為實例性及解釋性且並不限制教示內容。

【0033】除非在說明書中明確說明，否則說明書中敘述「包括」各種組分之實施例亦涵蓋「由所敘述組分組成」或「基本上由所敘述組分組成」；說明書中敘述「由各種組分組成」之實施例亦涵蓋「包括所敘述組分」或「基本上由所敘述組分組成」；且說明書中敘述「基本上由各種組分組成」之實施例亦涵蓋「由所敘述組分組成」或「包括所敘述組分」(此可互換性並不適用於該等術語在申請專利範圍中之使用)。除非上下文另外明確指示，否則術語「或」係以包含性意義使用，亦即等效於「及/或」。

【0034】本文所用之部分標題僅出於組織目的，而不能解釋為以任一方式限制期望標的物。在以引用方式納入之任一材料與本說明書中所定義之任一術語或本說明書之任一其他表達內容矛盾，則以本說明書為準。儘管連同各個實施例一起闡述了本發明教示內容，但並不意欲將本發明教示內容限於該等實施例。與之相反，本發明教示內容涵蓋各種替代方案、修改及等效形式，如熟習此項技術者將瞭解。

I. 定義

【0035】除非另外陳述，否則本文所用之下列術語及片語意欲具有下列含義：

【0036】「多核苷酸」及「核酸」在本文中用於係指包括具有

沿主鏈連接至一起之含氮雜環鹼基或鹼基類似物之核苷或核苷類似物之多聚體化合物，包含習用RNA、DNA混合RNA-DNA及其類似聚合物。核酸「主鏈」可由多個鍵聯構成，包含糖-磷酸二酯鍵聯、肽-核酸鍵(「肽核酸」或PNA；PCT第WO 95/32305號)、硫代磷酸酯鍵聯、甲基膦酸酯鍵聯或其組合中之一或多者。核酸之糖部分可為核糖、去氧核糖或具有取代(例如2'甲氧基或2'鹵化物取代)之類似化合物。含氮鹼基可為習用鹼基(A、G、C、T、U)、其類似物(例如經修飾尿苷，例如5-甲氧基尿苷、假尿苷或N1-甲基假尿苷，或其他)；肌苷；嘌呤或嘧啶衍生物(例如N^4-甲基去氧鳥苷、去氮雜-或氮雜-嘌呤、去氮雜-或氮雜-嘧啶、在5或6位具有取代基之嘧啶鹼基(例如5-甲基胞嘧啶)、在2、6或8位具有取代基之嘌呤鹼基、2-胺基-6-甲基胺基嘌呤、O^6-甲基鳥嘌呤、4-硫基-嘧啶、4-胺基-嘧啶、4-二甲基肼-嘧啶及O^4-烷基-嘧啶；美國專利第5,378,825號及PCT第WO 93/13121號)。關於一般論述，可參見*The Biochemistry of the Nucleic Acids* 5-36, Adams等人編輯，第11版，1992)。核酸可包含一或多個「無鹼基」殘基，其中主鏈在聚合物之一或多個位置不包含含氮鹼基(美國專利第5,585,481號)。核酸可僅包括習用RNA或DNA糖、鹼基及鍵聯，或可包含習用組分及取代二者(例如具有2'甲氧基鍵聯之習用鹼基或含有習用鹼基及一或多種鹼基類似物二者之聚合物)。核酸包含「鎖核酸」 (LNA)，一種含有一或多個LNA核苷酸單體以及鎖定為模擬RNA之糖構形之雙環呋喃糖單元的類似物，該等增強了對互補RNA及DNA序列之雜交親和性(Vester及Wengel, 2004, *Biochemistry* 43(42):13233-41)。RNA及DNA具有不同糖部分且其

區別可在於，在RNA中存在尿嘧啶或其類似物，而在DNA中存在胸腺嘧啶或其類似物。

【0037】「嚮導RNA」、「gRNA」及「嚮導」在本文中可互換使用且係指crRNA (亦稱為CRISPR RNA)或crRNA及trRNA之組合(亦稱為tracrRNA)。crRNA及trRNA可締合為單一RNA分子(單嚮導RNA，sgRNA)或為兩個單獨RNA分子(雙嚮導RNA，dgRNA)。「嚮導RNA」或「gRNA」係指每一類型。trRNA可為天然序列或與天然序列相比具有修飾或變化之trRNA序列。

【0038】如本文中所使用，「嚮導序列」係指嚮導RNA內與靶序列互補之序列，其用於將嚮導RNA引導至靶序列以用於藉由RNA引導之DNA結合劑進行結合或修飾(例如裂解)。「嚮導序列」亦可稱為「靶向序列」或「間隔體序列」。嚮導序列之長度可為20個鹼基對，例如在釀膿鏈球菌(Streptococcus pyogene) (亦即Spy Cas9)及相關Cas9同系物/直向同源物之情形下。亦可使用較短或較長序列作為嚮導，例如長度為15-、16-、17-、18-、19-、21-、22-、23-、24-或25個核苷酸。舉例而言，在一些實施例中，嚮導序列包括選自SEQ ID NO:1-84之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸。在一些實施例中，舉例而言，靶序列位於基因中或染色體上，且與嚮導序列互補。在一些實施例中，嚮導序列與其相應靶序列之間之互補性或一致性程度可為約75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。舉例而言，在一些實施例中，嚮導序列包括與選自SEQ ID NO:1-84之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸具有約75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一

致性之序列。在一些實施例中，嚮導序列及靶區域可100%互補或一致。在其他實施例中，嚮導序列及靶區域可含有至少一個失配。舉例而言，嚮導序列及靶序列可含有1、2、3或4個失配，其中靶序列之總長度為至少17、18、19、20或更多個鹼基對。在一些實施例中，嚮導序列及靶區域可含有1-4個失配，其中嚮導序列包括至少17、18、19、20或更多個核苷酸。在一些實施例中，嚮導序列及靶區域可含有1、2、3或4個失配，其中嚮導序列包括20個核苷酸。

【0039】 RNA引導之DNA結合劑之靶序列包含基因體之DNA正鏈及負鏈二者(亦即既定序列及該序列之反向補體)，此乃因RNA引導之DNA結合劑之核酸受質係雙鏈核酸。因此，在嚮導序列視為「與靶序列互補」之情形下，應理解，嚮導序列可引導嚮導RNA結合至靶序列之反向補體。因此，在一些實施例中，在嚮導序列結合靶序列之反向補體之情形下，嚮導序列與靶序列(例如不包含PAM之靶序列)之某些核苷酸一致，只是在嚮導序列中使用U取代T。

【0040】 如本文中所使用，「YA位點」係指5'-嘧啶-腺嘌呤-3'二核苷酸。「保守區YA位點」存在於sgRNA之保守區中。「嚮導區YA位點」存在於sgRNA之嚮導區中。sgRNA中之未修飾YA位點可易於由RNase-A樣內核酸酶(例如RNase A)裂解。在一些實施例中，sgRNA在其保守區中包括約個10 YA位點。在一些實施例中，sgRNA在其保守區中包括1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個YA位點。實例性保守區YA位點指示於圖10中。實例性嚮導區YA位點未展示於圖10中，此乃因嚮導區可為包含任一數量之YA位點之任一序列。在一些實施例中，sgRNA包括圖10中所指示之1、2、3、4、5、6、7、

8、9或10個YA位點。在一些實施例中，sgRNA在下列位置或其子組處包括1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個YA位點：LS5-LS6；US3-US4；US9-US10；US12-B3；LS7-LS8；LS12-N1；N6-N7；N14-N15；N17-N18；及H2-2至H2-3。在一些實施例中，YA位點包括修飾，此意指YA位點之至少一個核苷酸經修飾。在一些實施例中，YA位點之嘧啶(亦稱為嘧啶位置)包括修飾(其包含改變緊接嘧啶之糖之3'之核苷間鍵聯的修飾)。在一些實施例中，YA位點之腺嘌呤(亦稱為腺嘌呤位置)包括修飾(其包含改變緊接腺嘌呤之糖之3'之核苷間鍵聯的修飾)。在一些實施例中，YA位點之嘧啶位置及腺嘌呤位置包括修飾。

【0041】 如本文中所使用，「RNA引導之DNA結合劑」意指具有RNA及DNA結合活性之多肽或多肽複合物或此一複合物之DNA結合亞單元，其中DNA結合活性係序列特異性且取決於RNA序列。實例性RNA引導之DNA結合劑包含Cas裂解酶/切割酶及其不活化形式(「dCas DNA結合劑」)。本文所用之「Cas核酸酶」(亦稱為「Cas蛋白」)涵蓋Cas裂解酶、Cas切割酶及dCas DNA結合劑。Cas裂解酶/切割酶及dCas DNA結合劑包含III型CRISPR系統之Csm或Cmr複合物、其Cas10、Csm1或Cmr2亞單元、I型CRISPR系統之級聯複合物、其Cas3亞單元及種類2 Cas核酸酶。如本文中所使用，「種類2 Cas核酸酶」係具有RNA引導之DNA結合活性之單鏈多肽，例如Cas9核酸酶或Cpf1核酸酶。種類2 Cas核酸酶包含種類2 Cas裂解酶及種類2 Cas切割酶(例如H840A、D10A或N863A變體，其進一步具有RNA引導之DNA裂解酶或切割酶活性)以及種類2 dCas DNA結合

劑(其中裂解酶/切割酶活性不活化)。種類2 Cas核酸酶包含(例如)Cas9、Cpf1、C2c1、C2c2、C2c3、HF Cas9(例如N497A、R661A、Q695A、Q926A變體)、HypaCas9 (例如N692A、M694A、Q695A、H698A變體)、eSPCas9(1.0) (例如K810A、K1003A、R1060A變體)及eSPCas9(1.1) (例如K848A、K1003A、R1060A變體)蛋白及其修飾。Cpf1蛋白(Zetsche等人，*Cell*, 163: 1-13 (2015))與Cas9同源，且含有RuvC樣核酸酶結構域。Zetsche之Cpf1序列之全部內容以引用方式併入本文中。*例如參見*Zetsche之表S1及S3。「Cas9」涵蓋Spy Cas9 (本文所列示Cas9之變體中)及其等效形式。例如參見Makarova等人，*Nat Rev Microbiol*, 13(11): 722-36 (2015)；Shmakov等人，*Molecular Cell*, 60:385-397 (2015)。

【0042】如本文中所使用，「核糖核蛋白」(RNP)或「RNP複合物」係指嚮導RNA以及RNA引導之DNA結合劑(例如Cas核酸酶，例如Cas裂解酶、Cas切割酶或dCas DNA結合劑(例如Cas9))。在一些實施例中，嚮導RNA將RNA引導之DNA結合劑(例如Cas9)引導至靶序列，且嚮導RNA與靶序列雜交且該藥劑結合至靶序列；在藥劑係裂解酶或切割酶之情形下，在結合後可發生裂解或切割。

【0043】如本文中所使用，若第一序列與第二序列之比對展示整個第二序列中X%或更多之位置與第一序列匹配，則第一序列可視為「包括與第二序列具有至少X%一致性之序列」。舉例而言，序列AAGA包括與序列AAG具有100%一致性之序列，此乃因比對將得到100%一致性，其中與第二序列之所有三個位置皆匹配。RNA與DNA之間之差異(通常將尿苷交換為胸苷或反之亦然)及存在核苷類似物

(例如經修飾尿苷)並不在多核苷酸中造成一致性或互補性差異，只要相關核苷酸(例如胸苷、尿苷或經修飾尿苷)具有相同補體即可(例如用於所有胸苷、尿苷或經修飾尿苷之腺苷；另一實例係胞嘧啶及5-甲基胞嘧啶，二者皆使用鳥苷或經修飾鳥苷作為補體)。因此，舉例而言，序列5'-AXG (X係任一經修飾尿苷，例如假尿苷、N1-甲基假尿苷或5-甲氧基尿苷)可視為與AUG 100%一致，其中二者與同一序列(5'-CAU)完全互補。實例性比對算法係業內熟知之Smith-Waterman及Needleman-Wunsch算法。熟習此項技術者應理解，所選算法及參數設置應適用於擬比對之既定序列；對於通常具有類似長度及預期一致性(對於胺基酸而言>50%或對於核苷酸而言>75%)之序列而言，由EBI提供於www.ebi.ac.uk網路伺服器處之具有Needleman-Wunsch算法介面之預設設置之Needleman-Wunsch算法通常係適當的。

【0044】「mRNA」在本文中用於係指係RNA或經修飾RNA且包括可轉譯成多肽(亦即可用作核糖體及胺基-醯基化tRNA之轉譯受質)之開放閱讀框之多核苷酸。mRNA可包括含有核糖殘基或其類似物(例如2'-甲氧基核糖殘基)之磷酸酯-糖主鏈。在一些實施例中，mRNA磷酸酯-糖主鏈之糖基本上由核糖殘基、2'-甲氧基核糖殘基或其組合組成。

【0045】可用於本文所闡述之嚮導RNA組合物及方法中之嚮導序列展示於表1及整個申請案中。

【0046】如本文中所使用，「插入缺失」係指由諸多插入或缺失於靶核酸中之雙鏈斷裂(DSB)之位點處之核苷酸組成之插入/缺失突變。

【0047】 如本文中所使用，「敲低」係指降低特定基因產物(例如蛋白質、mRNA或二者)之表現。可藉由檢測來自所關注組織或細胞群體之蛋白質之總細胞量來量測蛋白質敲低。已知量測mRNA敲低之方法且包含對自所關注組織或細胞群體分離之mRNA進行測序。在一些實施例中，「敲低」可係指特定基因產物之表現之一定損失，例如所轉錄mRNA之量有所降低或由細胞群體(包含活體內群體，例如發現於組織中者)表現之蛋白質之量有所降低。

【0048】 如本文中所使用，「敲除」係指特定蛋白質在細胞中之表現之損失。可藉由檢測蛋白質在細胞、組織或細胞群體中之總細胞量來量測敲除。在一些實施例中，本發明方法「敲除」一或多種細胞(例如細胞群體，包含活體內群體，例如發現於組織中者)中之*LDHA*。在一些實施例中，敲除並非形成突變LDHA蛋白(例如藉由插入缺失產生)，而是完全損失細胞中之表LDH蛋白現。如本文中所使用，「LDH」係指乳酸脫氫酶，其係*LDHA*基因之基因產物。人類野生型*LDHA*序列可獲得於NCBI基因編號：3939；Ensembl ENSG00000134333處。

【0049】 「高草酸鹽尿症」係特徵在於在尿中具有過量草酸鹽之病狀。高草酸鹽尿症之實例性類型包含原發性高草酸鹽尿症(包含1型(PH1)、2型(PH2)及3型(PH3))、草酸鹽沈積症、腸高草酸鹽尿症及與食用高草酸鹽食物相關之高草酸鹽尿症。高草酸鹽尿症可為特發性。高草酸鹽含量引起草酸鈣結石形成及腎實質損害，此使得腎功能發生進展性退化且最終產生晚期腎病。因此，高草酸鹽尿症可產生過量草酸鹽且使草酸鈣晶體沈積於腎及泌尿道中。來自草酸鹽之腎損害

係由腎小管毒性、腎中之草酸鈣沈積及藉由草酸鈣結石之尿路阻塞之組合引起。腎功能受損會加劇疾病，此乃因過量草酸鹽可能不再有效排泄，從而隨後草酸鹽累積且結晶於骨、眼睛、皮膚及心臟以及其他器官中以引起嚴重病況及死亡。可發生腎衰竭及晚期腎病。尚未批準用於高草酸鹽尿症之醫藥療法。

【0050】「1型原發性高草酸鹽尿症(PH1)」係由AGXT基因突變所致之常染色體隱性病症，該AGXT基因編碼肝過氧化物酶體丙胺酸-乙醛酸胺基轉移酶(AGT)。AGT將乙醛酸鹽代謝成甘胺酸。缺乏AGT活性或其錯靶向線粒體使得乙醛酸鹽氧化成草酸鹽，草酸鹽僅可排泄於尿中。

【0051】破壞乳酸脫氫酶(LDH)(在將乙醛酸鹽轉化成隨後由腎排泄之草酸鹽之肝過氧化物酶體酶)係一種阻斷患病肝中之草酸鹽合成以潛在地預防出現於高草酸鹽尿症中之病況之可能機制。由乳酸脫氫酶(*LDHA*)基因編碼之LDH催化乙醛酸鹽至草酸鹽之轉化。阻抑LDH活性應可抑制草酸鹽產生，從而降低尿草酸鹽含量且同時累積乙醛酸鹽，乙醛酸鹽可由乙醛酸還原酶/羥基丙酮酸還原酶(GRHPR)轉化成羥基乙酸鹽。與草酸鹽不同，羥基乙酸鹽可溶於尿中且易於排泄於其中。當前，升高羥基乙酸鹽含量並無已知不利副效應。因此，在一些實施例中，提供抑制LDH活性之方法，其中在抑制後，草酸鹽產生得以抑制且羥基乙酸鹽產生有所增加。

【0052】草酸鹽(乙醛酸鹽之氧化產物)僅可排泄於尿中。在尿中具有高含量草酸鹽(「高草酸鹽尿症」)係高草酸鹽尿症之症狀。因此，尿中之草酸鹽增加係高草酸鹽尿症之症狀。草酸鹽可與鈣組合以

形成草酸鈣，草酸鈣係腎結石及膀胱結石之主要組分。腎及其他組織中之草酸鈣沈積物可引起血尿(血尿症)、泌尿道感染、腎損害、晚期腎病及其他疾病。隨時間變化，血液中之草酸鹽含量可有所升高且草酸鈣可沈積於全身之其他器官中(草酸鹽沈積症或全身性草酸鹽沈積症)。

【0053】 如本文中所使用，「靶序列」係指靶基因中與gRNA之嚮導序列具有互補性之核酸序列。靶序列與嚮導序列之相互作用會引導RNA引導之DNA結合劑結合且潛在地切割或裂解(取決於藥劑活性)靶序列。

【0054】 如本文中所使用，「治療」係指用於個體之疾病或病症之任一治療劑投與或施加，且包含抑制疾病，阻止其發展，減輕一或多種疾病症狀，治癒疾病，或預防一或多種疾病症狀之復發。舉例而言，治療高草酸鹽尿症可包括緩解高草酸鹽尿症之症狀。

【0055】 本文所用之術語「草酸鹽之治療相關性減少」或「治療範圍內之草酸鹽含量」意指，與基線相比尿草酸鹽排泄之減小大於30%。參見Leumann及Hoppe (1999) Nephrol Dial Transplant 14:2556-2558，2557頁，第二行。舉例而言，達成治療範圍內之草酸鹽含量意指將尿草酸鹽自基線減少30%以上。在一些實施例中，「正常草酸鹽含量」或「正常草酸鹽範圍」介於約80 μg草酸鹽/mg肌酸酐至約122 μg草酸鹽/mg肌酸酐之間。參見Li等人(2016) Biochim Biophys Acta 1862(2):233-239。在一些實施例中，草酸鹽之治療相關性減少達成小於200%、150%、125%、120%、115%、110%、105%或100%之正常值或在其內之含量。

【0056】術語「約」或「大約」意指如由熟習此項技術者所測定之特定值的可接受誤差，其部分地取決於該值之量測或測定方式。

II. 組成物

A. 包括嚮導RNA (gRNA)之組合物

【0057】本文提供可用於(例如)使用嚮導RNA與RNA引導之DNA結合劑(例如CRISPR/Cas系統)來誘導*LDHA*基因內之雙鏈斷裂(DSB)之組合物。可將該等組合物投與患有或懷疑患有高草酸鹽尿症之個體。可將該等組合物投與具有增加之尿草酸鹽輸出或降低之血清羥基乙酸鹽輸出之個體。靶向*LDHA*基因之嚮導序列展示於表1中之SEQ ID NO:1-84處。

【0058】表1中在SEQ ID NO:1-84及100-192處所展示之每一嚮導序列可進一步包括其他核苷酸以形成crRNA，舉例而言，在嚮導序列之3’端後面具有下列實例性核苷酸序列：GUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG (SEQ ID NO: 200)，沿5’至3’方向。在sgRNA之情形下，上述嚮導序列可進一步包括其他核苷酸以形成sgRNA，舉例而言，在嚮導序列之3’端後面具有下列實例性核苷酸序列：GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU (SEQ ID NO: 201)或GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC (SEQ ID NO: 203，其係不含4個末端U之SEQ ID NO: 201)，沿5’至3’方

向。在一些實施例中，SEQ ID NO: 201之4個末端U並不存在。在一些實施例中，僅存在SEQ ID NO: 201之4個末端U中之1、2或3者。

【0059】 在一些實施例中，提供*LDHA*短單嚮導RNA (*LDHA*短-sgRNA)，其包括如本文所闡述之嚮導序列及包括髮夾區之「sgRNA保守部分」，其中髮夾區至少缺失5-10個核苷酸或6-10個核苷酸。在某些實施例中，參照sgRNA之保守部分(例如表2B中之核苷酸H1-1至H2-15)，*LDHA*短單嚮導RNA之髮夾區缺乏5-10個核苷酸。在某些實施例中，參照sgRNA之保守部分(例如表2B中之核苷酸H1-1至H2-12)，*LDHA*短單嚮導RNA之髮夾區1缺乏5-10個核苷酸。

【0060】 實例性「sgRNA保守部分」展示於表2A中，該表格展示釀膿鏈球菌Cas9 (「spyCas9」 (亦稱為「spCas9」)) sgRNA之「保守區」。第一列展示核苷酸之編號，第二列展示序列(SEQ ID NO: 700)；且第三列展示「結構域」。*Briner AE*等人，*Molecular Cell* 56:333-339 (2014)闡述sgRNA之功能結構域(在本文中稱為「結構域」)，該等結構域包含負責靶向之「間隔體」結構域、「下莖」、「突起」、「上莖」 (其可包含四環)、「連接」及「髮夾1」及「髮夾2」結構域。參見Briner等人，第334頁，圖1A。

【0061】 表2B提供本文所用之sgRNA之結構域之示意圖。在表2B中，區域之間之「n」代表核苷酸之可變數量，例如0至1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更大。在一些實施例中，n等於0。在一些實施例中，n等於1。

【0062】 在一些實施例中，*LDHA* sgRNA係來自釀膿鏈球菌Cas9 (「spyCas9」)或spyCas9等效物。在一些實施例中，sgRNA並

非來自釀膿鏈球菌(「非spyCas9」)。在一些實施例中，5-10個核苷酸或6-10個核苷酸係連續的。

【0063】在一些實施例中，*LDHA*短-sgRNA至少缺乏釀膿鏈球菌 Cas9 (「spyCas9」) sgRNA之保守部分之核苷酸54-58 (AAAAA)，如表2A中所展示。在一些實施例中，*LDHA*短-sgRNA係非spyCas9 sgRNA，其至少缺乏對應於spyCas9之保守部分之核苷酸54-58 (AAAAA)之核苷酸，如(例如)藉由成對或結構比對所測定。在一些實施例中，非spyCas9 sgRNA係金黃色葡萄球菌(Staphylococcus aureus) Cas9 (「saCas9」) sgRNA。

【0064】在一些實施例中，*LDHA*短-sgRNA至少缺乏spyCas9 sgRNA之保守部分之核苷酸54-61 (AAAAAGUG)。在一些實施例中，*LDHA*短-sgRNA至少缺乏spyCas9 sgRNA之保守部分之核苷酸53-60 (GAAAAAGU)。在一些實施例中，*LDHA*短-sgRNA缺乏spyCas9 sgRNA之保守部分之核苷酸53-60 (GAAAAAGU)或核苷酸54-61 (AAAAAGUG)中之4、5、6、7或8個核苷酸，或缺乏非spyCas9 sgRNA之保守部分之相應核苷酸，如(例如)藉由成對或結構比對所測定。

【0065】在一些實施例中，sgRNA包括SEQ ID NO: 1-146之嚮導序列中之任一者及其他核苷酸以形成crRNA，舉例而言，在嚮導序列之3'端後面具有下列實例性核苷酸序列：GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGGCACCGAGUCGGUGC (SEQ ID NO: 202)，沿5'至3'方向。參照野生型嚮導RNA保守序列：

GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC (SEQ ID NO:203)，SEQ ID NO: 202缺乏8個核苷酸。

【0066】 表1：用於人類及食蟹猴之靶向*LDHA*之嚮導序列及染色體坐標

嚮導編號	**嚮導序列**	**實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)**	**SEQ ID NO:**
G012089	ACAUAGACCUACCUUAAUCA	chr11:18405564-18405584	1
G012090	AAAUAACUUAUGCUUACCAC	Hs: chr11:18403010-18403030 Cyno: chr14:49278339-49278359	2
G012091	AUGCAGUCAAAAGCCUCACC	chr11:18401009-18401029	3
G012092	UCAGGGUCUUUACGGAAUAA	chr11:18407112-18407132	4
G012093	CCUAUCAUACAGUGCUUAUG	chr11:18405436-18405456	5
G012094	CCGAUUCCGUUACCUAAUGG	chr11:18402924-18402944	6
G012095	UAGACCUACCUUAAUCAUGG	chr11:18405561-18405581	7
G012096	UACAGAGAGUCCAAUAGCCC	chr11:18405486-18405506	8

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G012097	CUUUUAGUGCCUGUAUGGAG	Hs: chr11:18403686-18403706 Cyno: chr14:49277655-49277675	9
G012098	CCCGAUUCCGUUACCUAAUG	chr11:18402923-18402943	10
G012099	GGCUGGGGCACGUCAGCAAG	chr11:18400876-18400896	11
G012100	CCCCAUUAGGUAACGGAAUC	chr11:18402926-18402946	12
G012101	AAGCUGGUCAUUAUCACGGC	Hs: chr11:18400859-18400879 Cyno: chr14:49280125-49280145	13
G012103	UACACUUUGGGGGAUCCAAA	chr11:18407244-18407264	14
G012104	AUUUGAUGUCUUUUAGGACU	chr11:18399414-18399434	15
G012105	CUCCAAGCUGGUCAUUAUCA	Hs: chr11:18400855-18400875 Cyno: chr14:49280129-49280149	16
G012106	GUCCAAUAUGGCAACUCUAA	chr11:18396835-18396855	17
G012107	GGCUACACAUCCUGGGCUAU	chr11:18405473-18405493	18

嚮導編號	**嚮導序列**	**實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)**	**SEQ ID NO:**
G009440	UACCUUCAUUAAGAUACUGA	chr11:18396951-18396971	19
G012108	AGCCCGAUUCCGUUACCUAA	chr11:18402921-18402941	20
G012109	GCCUUUCCCCCAUUAGGUAA	chr11:18402933-18402953	21
G012110	UACGCUGGACCAAAUUAAGA	Hs: chr11:18400909-18400929 Cyno: chr14:49280075-49280095	22
G012111	UAUUUCUUUUAGUGCCUGUA	chr11:18403681-18403701	23
G012112	AGCUGGUCAUUAUCACGGCU	Hs: chr11:18400860-18400880 Cyno: chr14:49280124-49280144	24
G012113	GCUGGUCAUUAUCACGGCUG	Hs: chr11:18400861-18400881 Cyno: chr14:49280123-49280143	25
G012114	GCUGGGGCACGUCAGCAAGA	chr11:18400877-18400897	26

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G012115	CUUUAUCAGUCCCUAAAUCU	Hs: chr11:18403748-18403768 Cyno: chr14:49277593-49277613	27
G012116	GCCCGAUUCCGUUACCUAAU	chr11:18402922-18402942	28
G012117	UUUCAUCUUCAGGGUCUUUA	chr11:18407104-18407124	29
G012118	ACAACUGUAAUCUUAUUCUG	Hs: chr11:18396899-18396919 Cyno: chr14:49282661-49282681	30
G012119	CAUUAAGAUACUGAUGGCAC	Hs: chr11:18396945-18396965 Cyno: chr17:59812521-59812541	31
G012120	UUUAGGGACUGAUAAAGAUA	Hs: chr11:18403751-18403771 Cyno: chr14:49277590-49277610	32

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G012121	CUGAUAAAGAUAAGGAACAG	Hs: chr11:18403759-18403779 Cyno: chr14:49277582-49277602	33
G012122	UUACCUAAUGGGGGAAAGGC	chr11:18402933-18402953	34
G012123	UGGAGUGGAAUGAAUGUUGC	Hs: chr11:18403701-18403721 Cyno: chr14:49277640-49277660	35
G012124	UCUUUAUCAGUCCCUAAAUC	Hs: chr11:18403749-18403769 Cyno: chr14:49277592-49277612	36
G012125	UCCGUUACCUAAUGGGGGAA	chr11:18402929-18402949	37
G012126	UAUCUGCACUCUUCUUCAAA	chr11:18407226-18407246	38
G012127	UACCUAAUGGGGGAAAGGCU	chr11:18402934-18402954	39

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G012128	AGCCGUGAUAAUGACCAGCU	Hs: chr11:18400860-18400880 Cyno: chr14:49280124-49280144	40
G012129	CCCCCAUUAGGUAACGGAAU	chr11:18402927-18402947	41
G012130	UUUAAAAUUGCAGCUCCUUU	chr11:18407262-18407282	42
G012131	GCUGAUUUAUAAUCUUCUAA	chr11:18396862-18396882	43
G012132	ACAUUCAUUCCACUCCAUAC	Hs: chr11:18403698-18403718 Cyno: chr14:49277643-49277663	44
G012133	CCUUAAUCAUGGUGGAAACU	Hs: chr11:18405553-18405573 Cyno: chr12:38488548-38488568	45
G012134	ACCUUAAUCAUGGUGGAAAC	chr11:18405554-18405574	46
G012135	CCUUUGCCAGAGACAAUCUU	chr11:18399529-18399549	47
G012136	GAAGGUGACUCUGACUUCUG	chr11:18407193-18407213	48

嚮導編號	**嚮導序列**	**實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)**	**SEQ ID NO:**
G012137	UAUUGGAAGCGGUUGCAAUC	chr11:18402894-18402914	49
G012138	AAGUCAGAGUCACCUUCACA	chr11:18407190-18407210	50
G012139	GACUCUGACUUCUGAGGAAG	chr11:18407199-18407219	51
G012140	UGCAACCGCUUCCAAUAACA	chr11:18402891-18402911	52
G012141	UAUUUUCUCCUUUUUCAUAG	Hs: chr11:18402819-18402839 Cyno: chr14:49278530-49278550	53
G012142	UUUUUUUCAUUUCAUCUUCA	chr11:18407095-18407115	54
G012143	ACCAAAGUAGUCACUGUUCA	Cyno: chr14:49274629-49274649	55
G012145	ACGCAGUUAAAAGGCUCACC	chr14:49279975-49279995	56
G012146	UUGCUUAUUGUUUCAAAUCC	Cyno: chr14:49279996-49280016 Hs: chr11:18400988-18401008	57
G012147	UUCCCCCUAUAGAUUCCUUC	chr14:49282754-49282774	58
G012148	UCGAGCUUUGUGGCAGUUAG	chr14:49283162-49283182	59

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G012149	UUGGGGUUAAUAAACCGCGA	Cyno: chr14:49283034-49283054 Hs: chr11:18396528-18396548	60
G012150	UGAAGGCCCAUACCUUAGCG	Cyno: chr14:49282959-49282979 Hs: chr11:18396603-18396623	61
G012151	CGGUUUAUUAACCCCAAGUG	Cyno: chr14:49283037-49283057 Hs: chr11:18396525-18396545	62
G012152	CCCAUACCUUAGCGUGGAAA	Cyno: chr14:49282965-49282985 Hs: chr11:18396597-18396617	63
G012153	GGCUUUUCUGCACGUACCUC	chr14:49283141-49283161	64
G012154	GAAAAGGAAUAUCGACGUUU	Cyno: chr14:49282981-49283001 Hs: chr11:18396581-18396601	65
G012155	ACCGCGAUGGGUGAGCCCUC	chr14:49283021-49283041	66

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G012156	GCGGUUUAUUAACCCCAAGU	Cyno: chr14:49283036-49283056 Hs: chr11:18396526-18396546	67
G012157	ACCGCACGCUUCAGUGCCUU	chr14:49283186-49283206	68
G012158	GGAAAAGGAAUAUCGACGUU	Cyno: chr14:49282980-49283000 Hs: chr11:18396582-18396602	69
G012159	GUGUAAGUAUAGCCUCCUGA	Cyno: chr14:49283003-49283023 Hs: chr11:18396559-18396579	70
G012160	GAUAUUCCUUUUCCACGCUA	Cyno: chr14:49282974-49282994 Hs: chr11:18396588-18396608	71
G012161	GCGAUGGGUGAGCCCUCAGG	chr14:49283018-49283038	72
G012162	GGAAAGGCCAGCCCCACUUG	Cyno: chr14:49283051-49283071 Hs: chr11:18396511-18396531	73
G012163	CACCGCACGCUUCAGUGCCU	chr14:49283187-49283207	74

嚮導編號	**嚮導序列**	**實例性基因體坐標(「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)**	**SEQ ID NO:**
G012164	UGCCACAAAGCUCGAGCCCA	chr14:49283167-49283187	75
G012165	GGUGUAAGUAUAGCCUCCUG	Cyno: chr14:49283002-49283022 Hs: chr11:18396560-18396580	76
G012166	UCCUGAGGGCUCACCCAUCG	chr14:49283017-49283037	77
G012167	AGGAAAGGCCAGCCCCACUU	Cyno: chr14:49283052-49283072 Hs: chr11:18396510-18396530	78
G012168	UUAUUAACCCCAAGUGGGGC	Cyno: chr14:49283041-49283061 Hs: chr11:18396521-18396541	79
G012169	GAGGAAAGGCCAGCCCCACU	Cyno: chr14:49283053-49283073 Hs: chr11:18396509-18396529	80
G012170	GCUCAAAGUGAUCUUGUCUG	chr14:49283072-49283092	81
G012171	CCUGGCUGUGUCCUUGCUGU	Cyno: chr14:49283105-49283125 Hs: chr11:18396457-18396477	82

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G012172	CGCGGUUUAUUAACCCCAAG	Cyno: chr14:49283035-49283055 Hs: chr11:18396527-18396547	83
G012173	UGGGGUUAAUAAACCGCGAU	Cyno: chr14:49283033-49283053 Hs: chr11:18396529-18396549	84
G015538	UUUCCCAAAAACCGUGUUAU	Cyno: chr14:49278472-49278492	100
G015539	GAAAGAGGUUCACAAGCAGG	Cyno: chr14:49277560-49277580	101
G015540	GUGGAAAGAGGUUCACAAGC	Cyno: chr14:49277563-49277583	102
G015541	GAGAUGAUGGAUCUCCAACA	Cyno: chr12:38487918-38487938 Hs: chr11:18399484-18399504	103
G015542	UAAGGAAAAGGCUGCCAUGU	Cyno: chr17:59812615-59812635	104
G015543	UGUAACUGCAAACUCCAAGC	Cyno: chr14:49280141-49280161	105
G015544	CUUCCAAUAACACGGUUUUU	Cyno: chr14:49278466-49278486	106
G015545	AAAAACCGUGUUAUUGGAAG	Cyno: chr14:49278466-49278486	107

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G015546	GUUCACCCAUUAAGCUGUCA	Cyno: chr14:49278391-49278411	108
G015547	UUCACCCAUUAAGCUGUCAU	Cyno: chr14:49278390-49278410 Hs: chr11:18402959-18402979	109
G015548	ACCCAUUAAGCUGUCAUGGG	Cyno: chr14:49278387-49278407	110
G015549	UGGAAUCUCCAUGUUCCCCA	Cyno: chr14:49278359-49278379	111
G015550	AGAGUAUAAUGAAGAAUCUU	Cyno: chr12:38488514-38488534	112
G015551	GCUGAUUCAUAAUCUUCUAA	Cyno: chr14:49282698-49282718	113
G015552	CAAAUUGAAGGGAGAGAUGA	Cyno: chr12:38487905-38487925	114
G015553	UCUUUGGUGUUCUAAGGAAA	Cyno: chr12:38487947-38487967	115
G015554	CAAUAAGCAACUUGCAGUUC	Cyno: chr14:49280006-49280026	116
G015555	ACAAUAAGCAACUUGCAGUU	Cyno: chr14:49280005-49280025	117
G015556	GCUUAUUGUUUCAAAUCCAG	Cyno: chr12:38488136-38488156	118
G015557	ACUUCCAAUAACACGGUUUU	Cyno: chr14:49278465-49278485	119

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G015558	CCCAUUAAGCUGUCAUGGGU	Cyno: chr14:49278386-49278406	120
G015559	UCCACUCCAUACAGGCACAC	Cyno: chr12:38488327-38488347	121
G015560	AAGACUCUGCACCCAGAUUU	Cyno: chr14:49277607-49277627	122
G015561	AGACUCUGCACCCAGAUUUA	Cyno: chr14:49277606-49277626 Hs: chr11:18403735-18403755	123
G015562	CCAGUUUCCACCAUGAUUAA	Cyno: chr12:38488546-38488566	124
G015563	ACCAUGAUUAAGGGUCUCUA	Cyno: chr12:38488555-38488575	125
G015564	AUAGAGACCCUUAAUCAUGG	Cyno: chr12:38488556-38488576	126
G015565	UCCAUAGAGACCCUUAAUCA	Cyno: chr12:38488559-38488579	127
G015566	UAAGGGUCUCUAUGGAAUAA	Cyno: chr12:38488563-38488583	128
G015567	AGAUAAGGAACAGUGGAAAG	Cyno: chr14:49277575-49277595	129
G015568	CAGAAUAAGAUUACAGUUGU	Cyno: chr14:49282661-49282681	130
G015569	AGAAUAAGAUUACAGUUGUU	Cyno: chr14:49282660-49282680	131

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G015570	AACAACUGUAAUCUUAUUCU	Cyno: chr14:49282660-49282680	132
G015571	GAAUAAGAUUACAGUUGUUG	Cyno: chr14:49282659-49282679 Hs: chr11:18396901-18396921	133
G015572	CAACAACUGUAAUCUUAUUC	Cyno: chr14:49282659-49282679	134
G015573	AAGAUUACAGUUGUUGGGGU	Cyno: chr14:49282655-49282675	135
G015574	GUUGUUGGGGUUGGUGCUGU	Cyno: chr14:49282646-49282666	136
G015575	UGCCAUCAGUAUCUUAAUGA	Cyno: chr17:59812522-59812542	137
G015576	GUCCUUCAUUAAGAUACUGA	Cyno: chr17:59812527-59812547	138
G015577	CAGUAUCUUAAUGAAGGACU	Cyno: chr17:59812528-59812548	139
G015578	UGUCAUCGAAGACAAAUUGA	Cyno: chr12:38487893-38487913	140
G015579	GUCAUCGAAGACAAAUUGAA	Cyno: chr12:38487894-38487914	141
G015580	AGACAAUCUUUGGUGUUCUA	Cyno: chr12:38487953-38487973	142
G015581	AGAACACCAAAGAUUGUCUC	Cyno: chr12:38487954-38487974	143

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G015582	GGCUGGGGCACGUCAACAAG	Cyno: chr14:49280108-49280128	144
G015583	GCUGGGGCACGUCAACAAGA	Cyno: chr14:49280107-49280127	145
G015584	GGGAGAAAGCCGUCUUAAUU	Cyno: chr14:49280087-49280107	146
G015585	UAAAGAUGUUCACGUUACGC	Cyno: chr14:49280060-49280080	147
G015586	GGGCUGUAUUUUACAACAUU	Cyno: chr14:49280026-49280046	148
G015587	UACGUGGCUUGGAAGAUAAG	Cyno: chr14:49278496-49278516 Hs: chr11:18402853-18402873	149
G015588	ACUUAUCUUCCAAGCCACGU	Cyno: chr14:49278495-49278515	150
G015589	UGCAACCACUUCCAAUAACA	Cyno: chr14:49278458-49278478	151
G015590	AGCCAGAUUCCGUUACCUGA	Cyno: chr14:49278428-49278448	152
G015591	GCCAGAUUCCGUUACCUGAU	Cyno: chr14:49278427-49278447	153
G015592	CCAGAUUCCGUUACCUGAUG	Cyno: chr14:49278426-49278446	154
G015593	CCCCAUCAGGUAACGGAAUC	Cyno: chr14:49278423-49278443	155

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標(「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G015594	CCCACCCAUGACAGCUUAAU	Cyno: chr14:49278383-49278403 Hs: chr11:18402966-18402986	156
G015595	ACCCACCCAUGACAGCUUAA	Cyno: chr14:49278382-49278402	157
G015596	AGCUGUCAUGGGUGGGUCCU	Cyno: chr14:49278379-49278399	158
G015597	GCUGUCAUGGGUGGGUCCUU	Cyno: chr14:49278378-49278398	159
G015598	CUGUCAUGGGUGGGUCCUUG	Cyno: chr14:49278377-49278397	160
G015599	GGGUGGGUCCUUGGGGAACA	Cyno: chr14:49278370-49278390	161
G015600	GAGAUUCCAGUGUGCCUGUA	Cyno: chr12:38488318-38488338	162
G015601	UCCAGUGUGCCUGUAUGGAG	Cyno: chr12:38488323-38488343	163
G015602	AUCUGGGUGCAGAGUCUUCA	Cyno: chr14:49277609-49277629	164
G015603	AAUCUGGGUGCAGAGUCUUC	Cyno: chr14:49277608-49277628	165
G015604	UAUGAGGUGAUCAAACUCAA	Cyno: chr12:38488447-38488467 Hs: chr11:18405452-18405472	166

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G015605	UGGACUCUCUGUAGCAGAUU	Cyno: chr12:38488488-38488508	167
G015606	CCCAGUUUCCACCAUGAUUA	Cyno: chr12:38488545-38488565	168
G015607	UGGGGUUGGUGCUGUUGGCA	Cyno: chr12:38487815-38487835	169
G015608	GAACACCAAAGAUUGUCUCU	Cyno: chr17:59812635-59812655	170
G015609	CAGAUUCCGUUACCUGAUGG	Cyno: chr14:49278425-49278445	171
G015610	UUACCUGAUGGGGGAAAGAC	Cyno: chr14:49278416-49278436	172
G015611	GUCUUUCCCCCAUCAGGUAA	Cyno: chr14:49278416-49278436	173
G015612	UACCUGAUGGGGGAAAGACU	Cyno: chr14:49278415-49278435	174
G015613	CUCCCAGUCUUUCCCCCAUC	Cyno: chr14:49278410-49278430	175
G015614	AACUCAAAGGCUACACAUCC	Cyno: chr17:59813145-59813165	176
G015615	ACUCAAAGGCUACACAUCCU	Cyno: chr17:59813146-59813166	177
G015616	GGCUACACAUCCUGGGCCAU	Cyno: chr17:59813153-59813173	178
G015617	UACAGAGAGUCCAAUGGCCC	Cyno: chr17:59813166-59813186	179

嚮導編號	嚮導序列	實例性基因體坐標 (「Hs」指示人類；「Cyno」指示食蟹猴；未指定者係人類)	SEQ ID NO:
G015618	AUCUGCUACAGAGAGUCCAA	Cyno: chr17:59813172-59813192	180
G015619	CCCUUAAUCAUGGUGGAAAC	Cyno: chr12:38488549-38488569	181
G015620	CCUUGCAUUUUGGGACAGAA	Cyno: chr17:59813291-59813311	182
G015621	CCAUUCUGUCCCAAAAUGCA	Cyno: chr17:59813294-59813314	183
G015622	AGUGGAUAUCUUGACCUACG	Cyno: chr14:49278512-49278532	184
G015623	AUAUCUUGACCUACGUGGCU	Cyno: chr14:49278507-49278527	185
G015624	UAUUGGAAGUGGUUGCAAUC	Cyno: chr14:49278455-49278475	186
G015625	UCUUUCCCAGAGACAAUCUU	Cyno: chr17:59812643-59812663	187
G015626	GGUGGUUGAGAGUGCUUAUG	Cyno: chr17:59813116-59813136	188
G015627	CCUCAGUGUUCCUUGCAUUU	Cyno: chr17:59813281-59813301	189
G015628	CUCAGUGUUCCUUGCAUUUU	Cyno: chr17:59813282-59813302	190
G015629	CCAAAAUGCAAGGAACACUG	Cyno: chr17:59813284-59813304	191
G015630	ACGUAGGUCAAGAUAUCCAC	Cyno: chr12:38488155-38488175	192

【0067】 表2：靶向*LDHA*之gRNA及sgRNA之命名與序列

嚮導編號 (sgRNA)	**嚮導編號 (crRNA)**	**sgRNA序列 -未修飾**	**SEQ ID NO**	**sgRNA序列 -經修飾**	**SEQ ID NO**
G012089	CR0011780	ACAUAGACCUACCUUAAUCAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1001	mA*mC*mA*UAGACCUACCUUAAUCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2001
G012093	CR0011784	CCUAUCAUACAGUGCUUAUGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1005	mC*mC*mU*AUCAUACAGUGCUUAUGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2005

嚮導編號 (sgRNA)	嚮導編號 (crRNA)	sgRNA序列 -未修飾	SEQ ID NO	sgRNA序列 -經修飾	SEQ ID NO
G012095	CR0011786	UAGACCUACCUUAAUCAUGGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1007	mU*mA*mG*ACCUACCUUAAUCAUGGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2007
G012096	CR0011787	UACAGAGAGUCCAAUAGCCCGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1008	mU*mA*mC*AGAGAGUCCAAUAGCCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2008

嚮導編號 (sgRNA)	嚮導編號 (crRNA)	sgRNA序列 -未修飾	SEQ ID NO	sgRNA序列 -經修飾	SEQ ID NO
G012103	CR0011793	UACACUUUGGGGGAUCCAAAUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1014	mU*mA*mC*ACUUUGGGGGAUCCAAAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2014
G012111	CR0011801	UAUUUCUUUUAGUGCCUGUAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1023	mU*mA*mU*UUCUUUUAGUGCCUGUAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2023

嚮導編號 (sgRNA)	嚮導編號 (crRNA)	sgRNA序列 -未修飾	SEQ ID NO	sgRNA序列 -經修飾	SEQ ID NO
G012115	CR0011805	CUUUAUCAGUCCCUAAAUCUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1027	mC*mU*mU*UUUAUCAGUCCCUAAAUCUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2027
G012120	CR0011810	UUUAGGGACUGAUAAAGAUAUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1032	mU*mU*mU*AGGGACUGAUAAAGAUAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU	2032

嚮導編號 (sgRNA)	嚮導編號 (crRNA)	sgRNA序列 -未修飾	SEQ ID NO	sgRNA序列 -經修飾	SEQ ID NO
G012133	CR0011823	CCUUAAUCAUGGUGGAAACUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1045	mC*mC*mU*UAAUCAUGGUGGAAACUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2045
G012136	CR0011826	GAAGGUGACUCUGACUUCUGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1048	mG*mA*mA*GGUGACUCUGACUUCUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2048

嚮導編號 (sgRNA)	嚮導編號 (crRNA)	sgRNA序列 -未修飾	SEQ ID NO	sgRNA序列 -經修飾	SEQ ID NO
G012151	CR0011840	CGGUUUAUUAACCCCAAGUGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1063	mC*mG*mG*UUUAUUAACCCCAAGUGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2063
G012155	CR0011844	ACCGCGAUGGGUGAGCCCUCGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1067	mA*mC*mC*GCGAUGGGUGAGCCCUCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2067

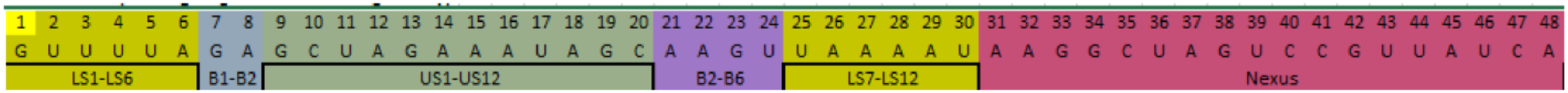
嚮導編號 (sgRNA)	嚮導編號 (crRNA)	sgRNA序列 -未修飾	SEQ ID NO	sgRNA序列 -經修飾	SEQ ID NO
G012157	CR0011846	ACCGCACGCUUCAGUGCCUUGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1069	mA*mC*mC*GCACGCUUCAGUGCCUUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2069
G012159	CR0011848	GUGUAAGUAUAGCCUCCUGAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1071	mG*mU*mG*UAAGUAUAGCCUCCUGAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2071

嚮導編號 (sgRNA)	嚮導編號 (crRNA)	sgRNA序列 -未修飾	SEQ ID NO	sgRNA序列 -經修飾	SEQ ID NO
G012162	CR0011851	GGAAAGGCCAGCCCCACUUGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1074	mG*mG*mA*AAGGCCAGCCCCACUUGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2074
G012164	CR0011853	UGCCACAAAGCUCGAGCCCAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1076	mU*mG*mC*CACAAAGCUCGAGCCCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2076

嚮導編號 (sgRNA)	嚮導編號 (crRNA)	sgRNA序列 -未修飾	SEQ ID NO	sgRNA序列 -經修飾	SEQ ID NO
G012165	CR0011854	GGUGUAAGUAUAGCCUCCUGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1077	mG*mG*mU*GUAAGUAUAGCCUCCUGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2077
G012166	CR0011855	UCCUGAGGGCUCACCCAUCGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1078	mU*mC*mC*UGAGGGCUCACCCAUCGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2078

嚮導編號 (sgRNA)	嚮導編號 (crRNA)	sgRNA序列 -未修飾	SEQ ID NO	sgRNA序列 -經修飾	SEQ ID NO
G012167	CR0011856	AGGAAAGGCCAGCCCCACUUGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1079	mA*mG*mG*AAAGGCCAGCCCCACUUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2079
G012169	CR0011858	GAGGAAAGGCCAGCCCCACUGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	1081	mG*mA*mG*GAAAGGCCAGCCCCACUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	2081

表2A (spyCas9 sgRNA之保守部分；SEQ ID NO:400)



續

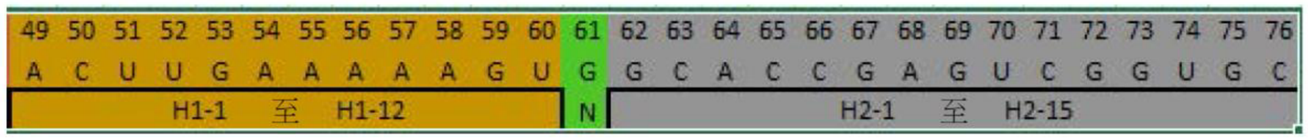


表2B

	LS1-6		B1 -2		US1-12		B3-6	
5'末端 (n)	下莖	n	突起	n	上莖	n	突起	n

續

LS7-12		N1-18		H1-1 至 HI-12		H2-1 至 H2-15	
下莖	n	連接	n	髮夾 1	n	髮夾 2	3 末端

【0068】在一些實施例中，本發明提供包括一或多個包括嚮導序列之嚮導RNA (gRNA)之組合物，該等嚮導序列將RNA引導之DNA結合劑(其可為核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9))引導至*LDHA*中之靶DNA序列。gRNA可包括含有表1中所展示之嚮導序列之crRNA。gRNA可包括含有表1中所展示之嚮導序列之17、18、19或20個鄰接核苷酸之crRNA。在一些實施例中，gRNA包括含有與表1中所展示嚮導序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸具有約75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性之序列之crRNA。在一些實施例中，gRNA包括含有與表1中所展示之嚮導序列具有約75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性之序列之crRNA。gRNA可進一步包括trRNA。在本文所闡述之每一組合物及方法實施例中，crRNA及trRNA可締合為單一RNA (sgRNA)或可為單獨RNA (dgRNA)。在sgRNA之背景中，crRNA及trRNA組分可(例如)經由磷酸二酯鍵或其他共價鍵共價連接。

【0069】在本文所闡述之組合物、用途及方法實施例中之每一者中，嚮導RNA可包括兩個RNA分子且呈「雙嚮導RNA」或「dgRNA」形式。dgRNA包括含有crRNA (包括(例如)表1中所展示之嚮導序列)之第一RNA分子及含有trRNA之第二RNA分子。第一及第二RNA分子可能並不共價連接，但可經由crRNA部分與trRNA部分之間之鹼基配對形成RNA雙鏈體。

【0070】在本文所闡述之組合物、用途及方法實施例中之每一者中，嚮導RNA可包括單一RNA分子且呈「單嚮導RNA」或

「sgRNA」形式。sgRNA可包括含有共價連接至trRNA之表1中所展示嚮導序列之crRNA (或其部分)。sgRNA可包括表1中所展示之嚮導序列之17、18、19或20個鄰接核苷酸。在一些實施例中，crRNA及trRNA經由連接體共價連接。在一些實施例中，sgRNA經由crRNA部分與trRNA部分之間之鹼基配對形成莖-環結構。在一些實施例中，crRNA及trRNA經由一或多個並非磷酸二酯鍵之鍵共價連接。

【0071】在一些實施例中，trRNA可包括衍生自天然CRISPR/Cas系統之trRNA序列之全部或一部分。在一些實施例中，trRNA包括截短或經修飾野生型trRNA。trRNA之長度取決於所用CRISPR/Cas系統。在一些實施例中，trRNA包括5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100個或大於100個核苷酸或由其組成。在一些實施例中，trRNA可包括某些二級結構，例如一或多個髮夾或莖-環結構或一或多個突起結構。

【0072】在一些實施例中，本發明提供包括一或多個包括SEQ ID NO:1-84中之任一者之嚮導序列之嚮導RNA的組合物。

【0073】在一些實施例中，本發明提供包括一或多個sgRNA之組合物，該等sgRNA包括SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081中之任一者或其經修飾形式(如例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)。

【0074】在一態樣中，本發明提供包括gRNA之組合物，該gRNA包括與SEQ ID NO:1-84中之任一核酸至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列。

【0075】在其他實施例中，該組合物包括至少一種(例如至少兩種)包括選自SEQ ID NO:1-84之嚮導序列中之任兩者或更多者之嚮導序列的gRNA。在一些實施例中，該組合物包括至少兩種gRNA，每一gRNA包括與SEQ ID NO:1-84中之任一核酸至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列。

【0076】本發明之嚮導RNA組合物經設計以識別(例如雜交至)*LDHA*基因中之靶序列。舉例而言，*LDHA*靶序列可由所提供包括嚮導RNA之Cas裂解酶識別且裂解。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑(例如Cas裂解酶)可由嚮導RNA引導至*LDHA*基因之靶序列，其中嚮導RNA之嚮導序列與靶序列雜交且RNA引導之DNA結合劑(例如Cas裂解酶)裂解靶序列。

【0077】在一些實施例中，一或多個嚮導RNA之選擇取決於*LDHA*基因內之靶序列。

【0078】不受限於任一特定理論，某些基因區域中之突變(例如源自插入缺失之框移突變，該等插入缺失係因核酸酶調介之DSB而發生)之耐受性可小於其他基因區域中之突變，因此DSB位置係可產生之蛋白質敲低之量或類型之重要因素。在一些實施例中，使用與*LDHA*內之靶序列互補或具有互補性之gRNA將RNA引導之DNA結合劑引導至*LDHA*基因中之特定位置。在一些實施例中，gRNA經設計

以具有與*LDHA*之外顯子1、外顯子2、外顯子3、外顯子4、外顯子5、外顯子6、外顯子7或外顯子8中之靶序列互補或具有互補性之嚮導序列。

【0079】 在一些實施例中，嚮導序列與存在於人類*LDHA*基因中之靶序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致。在一些實施例中，靶序列可與嚮導RNA之嚮導序列互補。在一些實施例中，嚮導RNA之嚮導序列及其相應靶序列之間之互補性或一致性程度可為至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在一些實施例中，靶序列及gRNA之嚮導序列可為100%互補或一致。在其他實施例中，靶序列及gRNA之嚮導序列可含有至少一個失配。舉例而言，靶序列及gRNA之嚮導序列可含有1、2、3或4個失配，其中嚮導序列之總長度為20。在一些實施例中，靶序列及gRNA之嚮導序列可含有1-4個失配，其中嚮導序列具有20個核苷酸。

【0080】 在一些實施例中，本文所揭示之組合物或調配物包括含有開放閱讀框(ORF)之mRNA，該開放閱讀框編碼RNA引導之DNA結合劑(例如如本文所闡述之Cas核酸酶)。在一些實施例中，提供、使用或投與包括編碼RNA引導之DNA結合劑(例如Cas核酸酶)之ORF之mRNA。

B. 經修飾gRNA及mRNA

【0081】 在一些實施例中，以化學方式修飾gRNA。包括一或多個經修飾核苷或核苷酸之gRNA稱為「經修飾」 gRNA或「經化學修飾之」 gRNA，其闡述存在一或多種用於代替標準A、G、C及U殘

基或標準A、G、C及U殘基以外之非天然及/或天然組分或構形。在一些實施例中，使用非標準核苷或核苷酸來合成經修飾gRNA，在本文中稱為「修飾」。經修飾核苷及核苷酸可包含以下中之一或多者：(i)改變(例如代替)磷酸二酯主鏈鍵聯中之一或兩個非連接性磷酸酯氧及/或一或多個連接性磷酸酯氧(實例性主鏈修飾)；(ii)改變(例如代替)核糖之組分(例如核糖上之2'羥基) (實例性糖修飾)；(iii)使用「去磷酸」連接體大規模代替磷酸酯部分(實例性主鏈修飾)；(iv)修飾或代替天然核鹼基，包含使用非標準核鹼基(實例性鹼基修飾)；(v)代替或修飾核糖-磷酸酯主鏈(實例性主鏈修飾)；(vi)修飾寡核苷酸之3'端或5'端，例如去除、修飾或代替末端磷酸酯基團或偶聯某一部分、帽或連接體(該等3'或5'帽修飾可包括糖及/或主鏈修飾)；及(vii)修飾或代替糖(實例性糖修飾)。

【0082】 可組合化學修飾(例如上文所列示者)以提供包括可具有兩個、三個、四個或更多個修飾之核苷及核苷酸(統稱為「殘基」)之經修飾gRNA及/或mRNA。舉例而言，經修飾殘基可具有經修飾糖及經修飾核鹼基。在一些實施例中，gRNA之每一鹼基經修飾，舉例而言，所有鹼基皆具有經修飾磷酸酯基團(例如硫代磷酸酯基團)。在某些實施例中，gRNA分子之所有或實質上所有磷酸酯基團經硫代磷酸酯基團代替。在一些實施例中，經修飾gRNA在RNA之5'端處或附近包括至少一個經修飾殘基。在一些實施例中，經修飾gRNA在RNA之3'端處或附近包括至少一個經修飾殘基。

【0083】 在一些實施例中，gRNA包括一個、兩個、三個或更多個經修飾殘基。在一些實施例中，經修飾gRNA中之至少5% (例如

至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或100%)之位置係經修飾核苷或核苷酸。

【0084】未修飾核酸可易於由(例如)細胞內核酸酶或發現於血清中者降解。舉例而言，核酸酶可水解核酸磷酸二酯鍵。因此，在一態樣中，本文所闡述之gRNA可含有一或多個經修飾核苷或核苷酸以(例如)引入針對細胞內或基於血清之核酸酶之穩定性。在一些實施例中，本文所闡述之經修飾gRNA分子在引入活體內及離體細胞群體中時可展現減小之先天性免疫反應。術語「先天性免疫反應」包含對外源性核酸(包含單鏈核酸)之細胞反應，該細胞反應涉及誘導細胞介素(尤其干擾素)表現及釋放以及細胞死亡。

【0085】在主鏈修飾之一些實施例中，可藉由使用不同取代基代替一或多個氧來修飾經修飾殘基之磷酸酯基團。另外，經修飾殘基(例如存在於經修飾核酸中之經修飾殘基)可包含使用如本文所闡述之經修飾磷酸酯基團大規模代替未修飾磷酸酯部分。在一些實施例中，磷酸酯主鏈之主鏈修飾可包含產生具有不對稱電荷分佈之不帶電連接體或帶電連接體之改變。

【0086】經修飾磷酸酯基團之實例包含硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、硼烷磷酸酯(borano phosphate、borano phosphate ester)、膦酸氫酯、磷醯胺酯、膦酸烷基酯或膦酸芳基酯及磷酸三酯。未修飾磷酸酯基團中之磷原子係非對掌性。然而，使用上述原子或原子基團中之一者代替一個非橋接氧可使得磷原子具有對掌性。立體磷原子可擁有

「R」構形(本文之Rp)或「S」構形(本文之Sp)。亦可藉由使用氮(橋接磷醯胺酯)、硫(橋接硫代磷酸酯)及碳(橋接亞甲基膦酸酯)代替橋接氧(亦即連接磷酸酯與核苷之氧)來修飾主鏈。代替可發生於任一連接性氧處或兩個連接性氧處。

【0087】在某些主鏈修飾中，磷酸酯基團可由非含磷連結體代替。在一些實施例中，帶電磷酸酯基團可由中性部分代替。可代替磷酸酯基團之部分之實例可包含(例如但不限於)甲基膦酸酯、羥基胺基、矽氧烷、碳酸酯、羧甲基、胺基甲酸酯、醯胺、硫醚、環氧乙烷連接體、磺酸酯、磺醯胺、硫基甲縮醛、甲縮醛、肟、亞甲基亞胺基、亞甲基甲基亞胺基、亞甲基伸肼基、亞甲基二甲基伸肼基及亞甲基氧基甲基亞胺基。

【0088】亦可構築可模擬核酸之架構，其中磷酸酯連接體及核糖由核酸酶抗性核苷或核苷酸代用品代替。該等修飾可包括主鏈及糖修飾。在一些實施例中，核鹼基可由代用主鏈結合。實例可包含(但不限於)嗎啉基、環丁基、吡咯啶及肽核酸(PNA)核苷代用品。

【0089】經修飾核苷及經修飾核苷酸可包含一或多個針對糖基團之修飾(亦即糖修飾)。舉例而言，2'羥基(OH)可經修飾，例如使用諸多不同「氧基」或「去氧」取代基代替。在一些實施例中，2'羥基修飾可增強核酸穩定性，此乃因羥基可不再發生去質子化以形成2'-烷氧化物離子。

【0090】2'羥基修飾之實例可包含烷氧基或芳基氧基(OR，其中「R」可為(例如)烷基、環烷基、芳基、芳烷基、雜芳基或糖)；聚乙二醇(PEG)，亦即$O(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2OR$，其中R可為(例如) H

或視情況經取代之烷基，且n可為0至20之整數(例如0至4、0至8、0至10、0至16、1至4、1至8、1至10、1至16、1至20、2至4、2至8、2至10、2至16、2至20、4至8、4至10、4至16及4至20)。在一些實施例中，2'羥基修飾可為2'-O-Me。在一些實施例中，2'羥基修飾可為2'-氟修飾，其使用氟化物代替2'羥基。在一些實施例中，2'羥基修飾可包含「鎖」核酸(LNA)，其中2'羥基可(例如)藉由C_{1-6}伸烷基或C_{1-6}伸雜烷基橋連結至相同核糖之4'碳，其中實例性橋可包含亞甲基、伸丙基、醚或胺基橋；O-胺基(其中胺基可為(例如) NH_2；烷基胺基、二烷基胺基、雜環基、芳基胺基、二芳基胺基、雜芳基胺基或二雜芳基胺基、乙二胺或聚胺基)及胺基烷氧基、$O(CH_2)_n$-胺基(其中胺基可為(例如) NH_2；烷基胺基、二烷基胺基、雜環基、芳基胺基、二芳基胺基、雜芳基胺基或二雜芳基胺基、乙二胺或聚胺基)。在一些實施例中，2'羥基修飾可包含「解鎖」核酸(UNA)，其中核糖環缺乏C2'-C3'鍵。在一些實施例中，2'羥基修飾可包含甲氧基乙基(MOE)、($OCH_2CH_2OCH_3$，例如PEG衍生物)。

【0091】「去氧」 2'修飾可包含氫(亦即去氧核糖，例如位於部分地dsRNA之懸突部分處)；鹵基(例如溴、氯、氟或碘)；胺基(其中胺基可為(例如) NH_2；烷基胺基、二烷基胺基、雜環基、芳基胺基、二芳基胺基、雜芳基胺基、二雜芳基胺基或胺基酸)；$NH(CH_2CH_2NH)_nCH_2CH_2$-胺基(其中胺基可(例如)如本文所闡述)、-NHC(O)R (其中R可為(例如)烷基、環烷基、芳基、芳烷基、雜芳基或糖)、氰基；巯基；烷基-硫基-烷基；硫基烷氧基；及烷基、環烷基、芳基、烯基及炔基，其可視情況經(例如)如本文所闡述之胺基取

代。

【0092】 糖修飾可包括亦可含有一或多個與核糖中之相應碳擁有相反立體化學構形之碳之糖基團。因此，經修飾核酸可包含含有(例如)阿拉伯糖作為糖之核苷酸。經修飾核酸亦可包含無鹼基糖。亦可進一步在一或多個組分糖原子處修飾該等無鹼基糖。經修飾核酸亦可包含一或多種呈L形式之糖(例如L-核苷)。

【0093】 本文所闡述可納入經修飾核酸中之經修飾核苷及經修飾核苷酸可包含經修飾鹼基(亦稱為核鹼基)。核鹼基之實例包含(但不限於)腺嘌呤(A)、鳥嘌呤(G)、胞嘧啶(C)及尿嘧啶(U)。該等核鹼基可經修飾或完全代替以提供可納入經修飾核酸中之經修飾殘基。核苷酸之核鹼基可獨立地選自嘌呤、嘧啶、嘌呤類似物或嘧啶類似物。在一些實施例中，核鹼基可包含(例如)鹼基之天然及合成衍生物。

【0094】 在採用雙嚮導RNA之實施例中，crRNA及tracr RNA中之每一者可含有修飾。該等修飾可位於crRNA及/或tracr RNA之一端或兩端處。在包括sgRNA之實施例中，可以化學方式修飾sgRNA之一端或兩端處之一或多個殘基，及/或可修飾內部核苷，及/或可以化學方式修飾整個sgRNA。某些實施例包括5'端修飾。某些實施例包括3'端修飾。

【0095】 在一些實施例中，本文所揭示之嚮導RNA包括2017年12月8日提出申請且標題為「Chemically Modified Guide RNAs」之WO2018/107028 A1中所揭示之一種修飾模式，該案件之全部內容之內容以引用方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之嚮導RNA包括US20170114334中所揭示之一種結構/修飾模式，該案件之

全部內容之內容以引用方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之嚮導RNA包括WO2017/136794中所揭示之一種結構/修飾模式，該案件之全部內容之內容以引用方式併入本文中。

C. YA修飾

【0096】 YA位點處之修飾(亦在本文中稱為「YA修飾」)可為核苷間鍵聯修飾、鹼基(嘧啶或腺嘌呤)修飾(例如藉由化學修飾、取代或以其他方式)及/或糖修飾(例如在2’位，例如2’-O-烷基、2’-F、2’-moe、2’-F阿拉伯糖、2’-H (去氧核糖)及諸如此類)。在一些實施例中，「YA修飾」係(例如)藉由以下方式改變二核苷酸基序之結構以減小RNA內核酸酶活性之任一修飾：藉由RNase干擾YA位點之識別或裂解及/或穩定降低裂解位點對RNase之可及性之RNA結構(例如二級結構)。*參見*Peacock等人，*J Org Chem*. 76: 7295-7300 (2011)；Behlke, *Oligonucleotides* 18:305-320 (2008)；Ku等人，*Adv. Drug Delivery Reviews* 104: 16-28 (2016)；Ghidini 等人，*Chem. Commun.*, 2013, 49, 9036。Peacock等人、Belhke、Ku及Ghidini提供適於作為YA修飾之實例性修飾。涵蓋熟習此項技術者已知之用以減小核酸內切溶解降解之修飾。影響涉及RNase裂解之2’羥基之實例性2’核糖修飾係2’-H及2’-O-烷基(包含2’-O-Me)。YA位點處之殘基之修飾(例如雙環核糖類似物、UNA及經修飾核苷間鍵聯)可為YA修飾。可穩定RNA結構之實例性鹼基修飾係假尿苷及5-甲基胞嘧啶。在一些實施例中，YA位點之至少一個核苷酸經修飾。在一些實施例中，YA位點之嘧啶(亦稱為「嘧啶位置」)包括修飾(其包含改變緊接嘧啶糖之3’之核苷間鍵聯之修飾、嘧啶鹼基修飾及核糖修飾(例如在

其2’位))。在一些實施例中，YA位點之腺嘌呤(亦稱為「腺嘌呤位置」)包括修飾(其包含改變緊接嘧啶糖之3’之核苷間鍵聯之修飾、嘧啶鹼基修飾及核糖修飾(例如在其2’位))。在一些實施例中，YA位點之嘧啶及腺嘌呤包括修飾。在一些實施例中，YA修飾減小了RNA內核酸酶活性。

【0097】在一些實施例中，sgRNA在1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或更多個YA位點處包括修飾。在一些實施例中，YA位點之嘧啶包括修飾(其包含改變緊接嘧啶糖之3’之核苷間鍵聯之修飾)。在一些實施例中，YA位點之腺嘌呤包括修飾(其包含改變緊接腺嘌呤糖之3’之核苷間鍵聯之修飾)。在一些實施例中，YA位點之嘧啶及腺嘌呤包括修飾，例如糖、鹼或核苷間鍵聯修飾。YA修飾可為本文所陳述之任一類修飾。在一些實施例中，YA修飾包括硫代磷酸酯、2’-OMe或2’-氟中之一或多者。在一些實施例中，YA修飾包括含有硫代磷酸酯、2’-OMe或2’-氟中之一或多者之嘧啶修飾。在一些實施例中，YA修飾包括含有一或多個YA位點之RNA雙鏈體區域內之雙環核糖類似物(例如LNA、BNA或ENA)。在一些實施例中，YA修飾包括含有YA位點之RNA雙鏈體區域內之雙環核糖類似物(例如LNA、BNA或ENA)，其中YA修飾位於YA位點遠端。

【0098】在一些實施例中，sgRNA包括嚮導區YA位點修飾。在一些實施例中，嚮導區包括1、2、3、4、5個或更多個可包括YA修飾之YA位點(「嚮導區YA位點」)。在一些實施例中，一或多個位於5’末端之5’端之5-端、6-端、7-端、8-端、9-端或10-端(其中「5-端」等係指嚮導區之3’端之位置5，亦即嚮導區中之最3’核苷酸)處之

YA位點包括YA修飾。在一些實施例中，兩個或更多個位於5’末端之5’端之5-端、6-端、7-端、8-端、9-端或10-端處之YA位點包括YA修飾。在一些實施例中，三個或更多個位於5’末端之5’端之5-端、6-端、7-端、8-端、9-端或10-端處之YA位點包括YA修飾。在一些實施例中，四個或更多個位於5’末端之5’端之5-端、6-端、7-端、8-端、9-端或10-端處之YA位點包括YA修飾。在一些實施例中，五個或更多個位於5’末端之5’端之5-端、6-端、7-端、8-端、9-端或10-端處之YA位點包括YA修飾。修飾嚮導區YA位點包括YA修飾。

【0099】 在一些實施例中，經修飾嚮導區YA位點位於嚮導區之3’末端核苷酸之17、16、15、14、13、12、11、10或9個核苷酸內。舉例而言，若經修飾嚮導區YA位點位於嚮導區之3’末端核苷酸之10個核苷酸內且嚮導區長20個核苷酸，則經修飾嚮導區YA位點之經修飾核苷酸位於位置11-20中之任一者。在一些實施例中，YA修飾位於嚮導區之3’末端核苷酸之20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1個核苷酸之YA位點內。在一些實施例中，YA修飾位於嚮導區之3’末端核苷酸之20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1個核苷酸內。

【0100】 在一些實施例中，經修飾嚮導區YA位點位於5’末端之5’端之核苷酸4、5、6、7、8、9、10或11或其後。

【0101】 在一些實施例中，經修飾嚮導區YA位點並無5’端修飾。舉例而言，sgRNA可包括如本文所闡述之5’端修飾且進一步包括經修飾嚮導區YA位點。或者，sgRNA可包括未修飾5’端及經修飾嚮

導區YA位點。或者，sgRNA可包括經修飾5’端及未修飾嚮導區YA位點。

【0102】 在一些實施例中，經修飾嚮導區YA位點包括不包括位於嚮導區YA位點之5’處之至少一個核苷酸之修飾。舉例而言，若核苷酸1-3包括硫代磷酸酯，核苷酸4僅包括2’-OMe修飾，且核苷酸5係YA位點之嘧啶并包括硫代磷酸酯，則經修飾嚮導區YA位點包括不包括位於嚮導區YA位點(核苷酸4)之5’處之至少一個核苷酸之修飾(硫代磷酸酯)。在另一實例中，若核苷酸1-3包括硫代磷酸酯，且核苷酸4係YA位點之嘧啶并包括2’-OMe，則經修飾嚮導區YA位點包括不包括位於嚮導區YA位點(核苷酸1-3中之任一者)之5’處之至少一個核苷酸之修飾(2’-OMe)。若未修飾核苷酸位於經修飾嚮導區YA位點之5’處，則此條件亦總是滿足。

【0103】 在一些實施例中，經修飾嚮導區YA位點包括如上文針對YA位點所闡述之修飾。

【0104】 嚮導區YA位點修飾之其他實施例陳述於上文之發明內容中。本發明其他處所陳述之任何實施例可與前述實施例中之任一者以可行程度進行組合。

【0105】 在一些實施例中，sgRNA包括保守區YA位點修飾。保守區YA位點1-10圖解說明於圖10中。在一些實施例中，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個保守區YA位點包括修飾。

【0106】 在一些實施例中，保守區YA位點1、8或1及8包括YA修飾。在一些實施例中，保守區YA位點1、2、3、4及10包括YA修飾。在一些實施例中，YA位點2、3、4、8及10包括YA修飾。在一些

實施例中，保守區YA位點1、2、3及10包括YA修飾。在一些實施例中，YA位點2、3、8及10包括YA修飾。在一些實施例中，YA位點1、2、3、4、8及10包括YA修飾。在一些實施例中，1、2、3、4、5、6、7或8個其他保守區YA位點包括YA修飾。

【0107】 在一些實施例中，保守區YA位點2、3、4及10中之1、2、3或4者包括YA修飾。在一些實施例中，1、2、3、4、5、6、7或8個其他保守區YA位點包括YA修飾。

【0108】 在一些實施例中，經修飾保守區YA位點包括如上文針對YA位點所闡述之修飾。

【0109】 保守區YA位點修飾之其他實施例陳述於上文之發明內容中。本發明其他處所陳述之任何實施例可與前述實施例中之任一者以可行程度進行組合。

【0110】 在一些實施例中，sgRNA包括上文表2或下文表3中所展示之任一修飾模式，其中N在存在時係任一天然或非天然核苷酸，且其中全部N構成如本文表1中所闡述之LDHA嚮導序列。表3並不繪示sgRNA之嚮導序列部分。修飾仍如表3中所展示，儘管使用嚮導核苷酸取代N。亦即，儘管嚮導核苷酸代替「N」，但核苷酸如表3中所展示經修飾。在嚮導序列附加至5’端時，嚮導序列之5’端(或5’末端)可經修飾。在一些實施例中，修飾包括2'-O-Me及/或PS-鍵。在一些實施例中，2'-O-Me及/或PS-鍵位於嚮導序列5’端處之前1至7、1至6、1至5、1至4或1至3個核苷酸處。

【0111】 表3：*LDHA* sgRNA修飾模式。未展示嚮導序列且在其5’端附加所展示序列。

SEQ ID NO	名稱	序列
400	G000262-僅修飾	GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
401	G000263-僅修飾	GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
402	G000264-僅修飾	GUUUUAGAGCUAmGmAmAmAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCmU*mU*mU*U
403	G000265-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAGAAAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCmU*mU*mU*U
404	G000266-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCmU*mU*mU*U
405	G000267-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
406	G000331-僅修飾	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

SEQ ID NO	名稱	序列
407	G000332 -僅修飾	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
408	G000333 -僅修飾	mGfUfUfUfUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
409	G000334 -僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
410	G000335 -僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
411	G000336 -僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
412	G000337 -僅修飾	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

SEQ ID NO	名稱	序列
413	G000338 -僅修飾	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmC mCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
414	G000339 -僅修飾	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmA mCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCm CmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
415	G000340 -僅修飾	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmC mCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
416	G000341 -僅修飾	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmC mCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
417	G000342 -僅修飾	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmC mCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
418	G000343 -僅修飾	GUUUUAmGmAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUm UmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmA mGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

SEQ ID NO	名稱	序列
419	G000344 -僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCmAmAmGmUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
420	G000345 -僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUfAfUfCfAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
421	G000346 -僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAmUmCmAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
422	G000347 -僅修飾	fGfUfUfUfUfAmGmAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCmAmAmGmUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAmUmCmAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
423	G000348 -僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmUmUmU
424	G000349 -僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmU*mU*mU

SEQ ID NO	名稱	序列
425	G000350 -僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAA GUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmU mGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAm GfUfCfGfGfUfGfCfU*fU*fU*mU
426	G000351 -僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAA GUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAfAmCfUmUfG mAfAmAfAmAfGmUfGmGfCmAfCmCfGmAfGmUfCmGf GmUfGmCfU*mU*fU*mU
427	G000352 -僅修飾	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUm UmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmA mGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
428	G000353 -僅修飾	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmU mUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGm AmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
429	G000354 -僅修飾	mGfUfUfUfUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmG mCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCm UmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmG mAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
430	G000355 -僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAA GUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmC mUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCm GmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

SEQ ID NO	名稱	序列
431	G000356-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
432	G000357-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
433	G000358-僅修飾	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
434	G000359-僅修飾	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
435	G000360-僅修飾	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
436	G000361-僅修飾	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

SEQ ID NO	名稱	序列
437	G000362-僅修飾	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
438	G000363-僅修飾	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
439	G000364-僅修飾	GUUUUAmGmAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
440	G000365-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCmAmAmGmUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
441	G000366-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUfAfUfCfAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
442	G000367-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAmUmCmAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

SEQ ID NO	名稱	序列
443	G000368-僅修飾	fGfUfUfUfUfAmGmAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCmAmAmGmUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAmUmCmAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
444	G000369-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmUmUmU
445	G000370-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU
446	G000371-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGfUfCfGfGfUfGfCfU*fU*fU*mU
447	G000372-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAfAmCfUmUfGmAfAmAfAmAfGmUfGmGfCmAfCmCfGmAfGmUfCmGfGmUfGmCfU*mU*fU*mU
448	實例性-僅嚮導區修飾	mN*mN*mN*mNNN*N*fN*fN*fN*fNNfNfNNNfNfNNN
449	實例性-僅嚮導區修飾	mN*mN*mN*mNNN*N*fN*fN*fN*fNNfNfNNN*fNfNNN

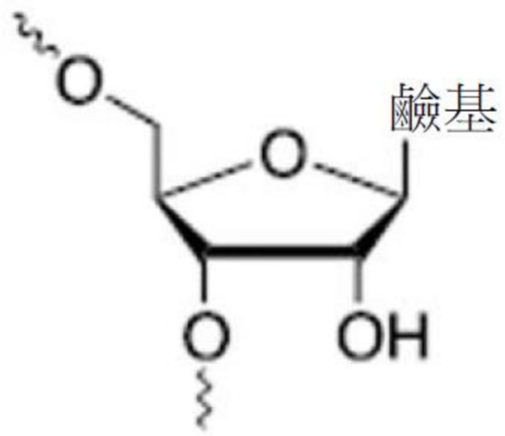
SEQ ID NO	名稱	序列
450	實例性-僅修飾	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGGCACCGAGUCGG*mU*mG*mC

【0112】在一些實施例中，經修飾sgRNA包括下列序列：mN*mN*mN*NNNNNNNNNNNNNNNNNNNGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU (SEQ ID NO: 300)，其中「N」可為任一天然或非天然核苷酸，且其中全部N構成如表1中所闡述之LDHA嚮導序列。舉例而言，本文涵蓋SEQ ID NO: 300，其中N經本文在表1中所揭示之任一嚮導序列(SEQ ID NO: 1-84)代替。

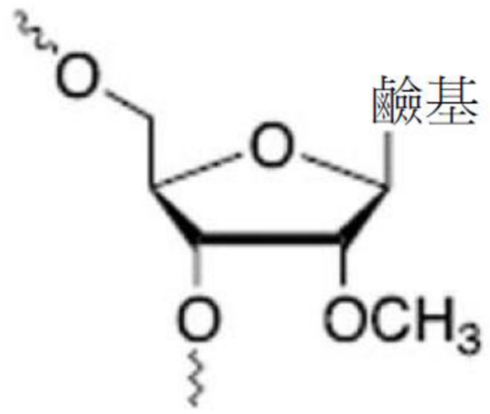
【0113】下述任一修飾可存在於本文所闡述之gRNA及mRNA中。

【0114】術語「mA」、「mC」、「mU」或「mG」可用於表示已經2'-O-Me修飾之核苷酸。

【0115】2'-*O*-甲基修飾可繪示如下：



RNA

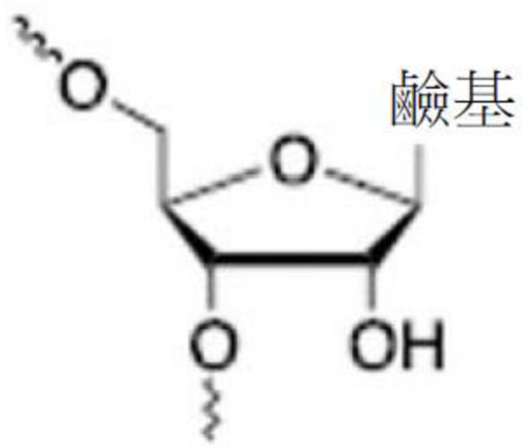


2′-*O*-Me

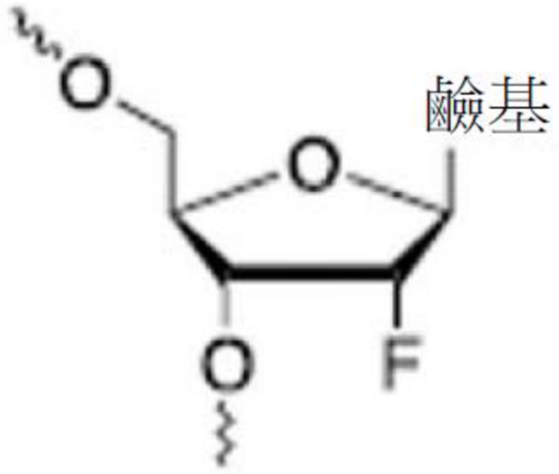
【0116】已展示影響核苷酸糖環之另一化學修飾係鹵素取代。舉例而言，核苷酸糖環上之2’-氟(2’-F)取代可增加寡核苷酸結合親和性及核酸酶穩定性。

【0117】在本申請案中，術語「fA」、「fC」、「fU」或「fG」可用於表示已經2’-F取代之核苷酸。

【0118】2’-F取代可繪示如下：



RNA



2′F-RNA

RNA之天然組成　　2′F 取代

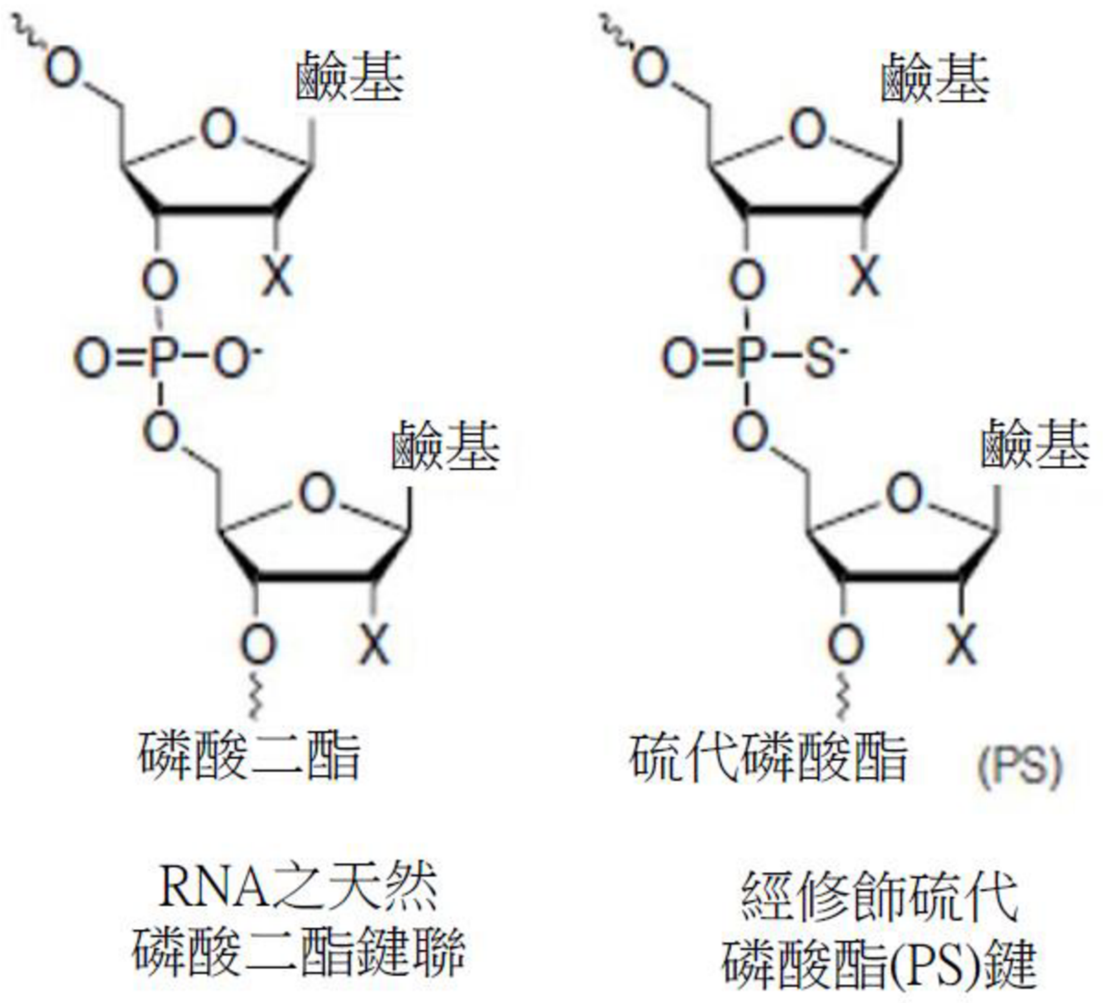
【0119】硫代磷酸酯(PS)鍵聯或鍵係指使用硫代替磷酸二酯鍵聯(例如核苷酸鹼基之間之鍵)中之一個非橋接性磷酸酯氧之鍵。在使用硫代磷酸酯來生成寡核苷酸時，經修飾寡核苷酸亦可稱為S-寡聚物。

【0120】可使用「*」來繪示PS修飾。在本申請案中，可使用術語A*、C*、U*或G*來表示使用PS鍵連接至下一(例如3’)核苷酸之

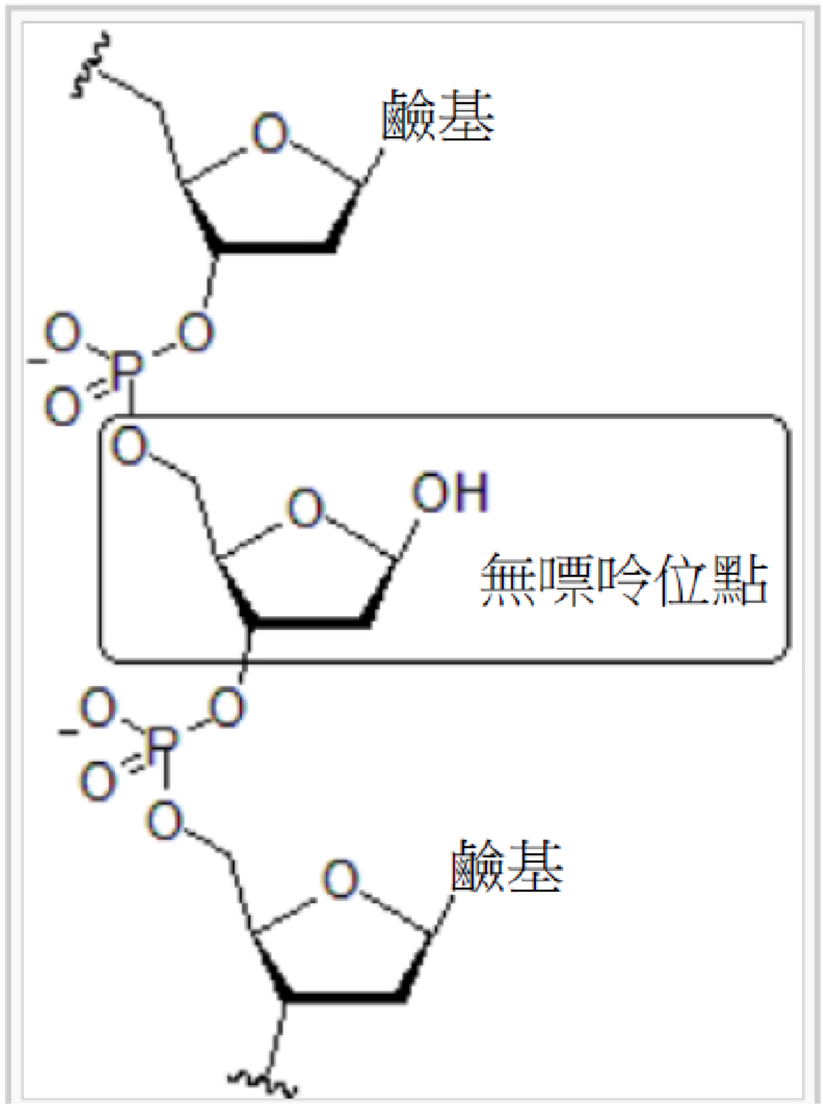
核苷酸。

【0121】在本申請案中，可使用術語「mA*」、「mC*」、「mU*」或「mG*」來表示已經2’-O-Me取代且使用PS鍵連接至下一(例如3’)核苷酸之核苷酸。

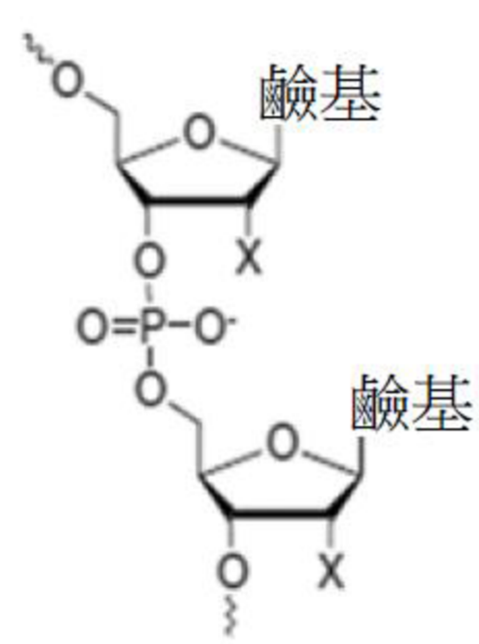
【0122】下圖展示使用S-代替非橋接性磷酸酯氧，從而生成PS鍵以代替磷酸二酯鍵：



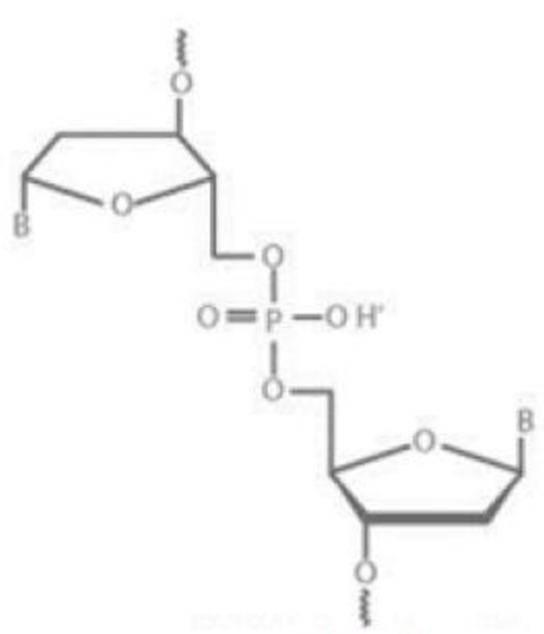
【0123】無鹼基核苷酸係指缺乏含氮鹼基者。下圖繪示具有缺乏鹼基之無鹼基(亦稱為無嘌呤)位點之寡核苷酸：



【0124】 反向鹼基係指具有與正常5’至3’鍵聯相反之鍵聯(亦即5’至5’鍵聯或3’至3’鍵聯)者。例如：



正常寡核苷酸鍵聯



反向寡核苷酸鍵聯

【0125】 無鹼基核苷酸可經反向鍵聯附接。舉例而言，無鹼基核苷酸可經由5’至5’鍵聯附接至末端5’核苷酸，或無鹼基核苷酸可經由3’至3’鍵聯附接至末端3’核苷酸。位於任一末端5’或3’核苷酸處之反向無鹼基核苷酸亦可稱為反向無鹼基端帽。

【0126】 在一些實施例中，5'末端處之前三個、四個或五個核苷酸中之一或多者及3'末端處之後三個、四個或五個核苷酸中之一或

多者經修飾。在一些實施例中，修飾係2’-O-Me、2’-F、反向無鹼基核苷酸、PS鍵或業內所熟知可增加穩定性及/或性能之其他核苷酸修飾。

【0127】 在一些實施例中，5'末端處之前四個核苷酸及3'末端處之後四個核苷酸經硫代磷酸酯(PS)鍵連接。

【0128】 在一些實施例中，5'末端處之前三個核苷酸及3'末端處之後三個核苷酸包括經2'-O-甲基(2'-O-Me)修飾之核苷酸。在一些實施例中，5'末端處之前三個核苷酸及3'末端處之後三個核苷酸包括經2'-氟(2'-F)修飾之核苷酸。在一些實施例中，5'末端處之前三個核苷酸及3'末端處之後三個核苷酸包括反向無鹼基核苷酸。

【0129】 在一些實施例中，嚮導RNA包括經修飾sgRNA。在一些實施例中，sgRNA包括SEQ ID No: 201、202或203中所展示之修飾模式，其中N係任一天然或非天然核苷酸，且其中全部N構成將核酸酶引導至*LDHA*中之靶序列之嚮導序列(例如如表1中所展示)。

【0130】 在一些實施例中，嚮導RNA包括SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081中之任一者或其經修飾形式(如例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)中所展示之sgRNA。在一些實施例中，嚮導RNA包括含有SEQ ID No: 1-84及100-192中之任一嚮導序列及SEQ ID No: 201、202或203之核苷酸之sgRNA，其中SEQ ID No: 201、202或

203之核苷酸位於嚮導序列之3’端上，且其中sgRNA可如表3或SEQ ID NO: 300中所展示進行修飾。

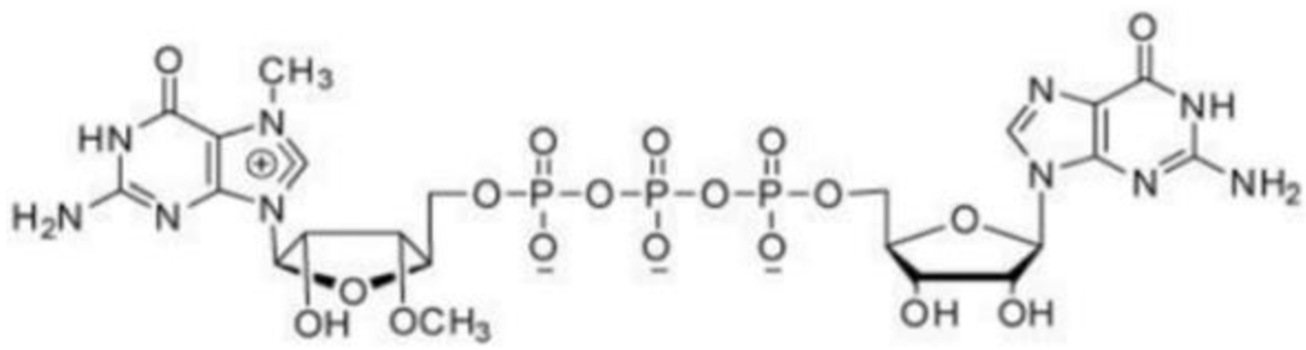
【0131】 如上所述，在一些實施例中，本文所揭示之組合物或調配物包括含有開放閱讀框(ORF)之mRNA，該開放閱讀框編碼RNA引導之DNA結合劑(例如如本文所闡述之Cas核酸酶)。在一些實施例中，提供、使用或投與包括編碼RNA引導之DNA結合劑(例如Cas核酸酶)之ORF之mRNA。在一些實施例中，編碼RNA引導之DNA核酸酶之ORF係「經修飾之RNA引導之DNA結合劑ORF」或簡稱為「經修飾ORF」，其用於指示ORF經修飾之簡寫。

【0132】 在一些實施例中，經修飾ORF可至少在一個、複數個或所有尿苷位置包括經修飾尿苷。在一些實施例中，經修飾尿苷係在5位(例如)經鹵素、甲基或乙基修飾之尿苷。在一些實施例中，經修飾尿苷係在1位(例如)經鹵素、甲基或乙基修飾之假尿苷。經修飾尿苷可為(例如)假尿苷、N1-甲基-假尿苷、5-甲氧基尿苷、5-碘尿苷或其組合。在一些實施例中，經修飾尿苷係5-甲氧基尿苷。在一些實施例中，經修飾尿苷係5-碘尿苷。在一些實施例中，經修飾尿苷係假尿苷。在一些實施例中，經修飾尿苷係N1-甲基-假尿苷。在一些實施例中，經修飾尿苷係假尿苷及N1-甲基-假尿苷之組合。在一些實施例中，經修飾尿苷係假尿苷及5-甲氧基尿苷之組合。在一些實施例中，經修飾尿苷係N1-甲基假尿苷及5-甲氧基尿苷之組合。在一些實施例中，經修飾尿苷係5-碘尿苷及N1-甲基-假尿苷之組合。在一些實施例中，經修飾尿苷係假尿苷及5-碘尿苷之組合。在一些實施例中，經修飾尿苷係5-碘尿苷及5-甲氧基尿苷之組合。

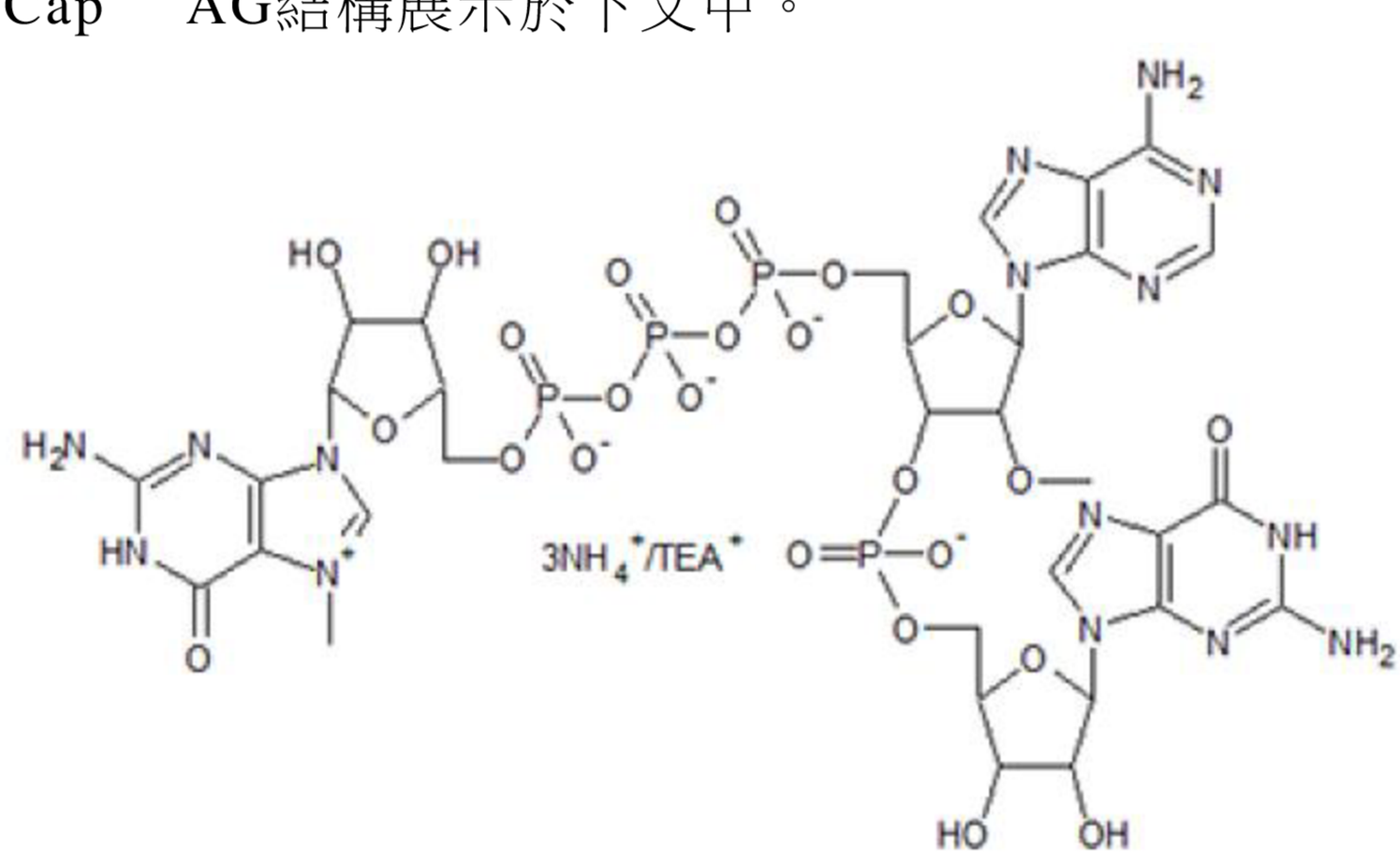
【0133】 在一些實施例中，本文所揭示之mRNA包括5’帽，例如帽0、帽1或帽2。5’帽通常係經由5’-三磷酸酯連接至mRNA中5’至3’鏈之第一核苷酸(亦即第一帽-近端核苷酸)之5’位之7-甲基鳥嘌呤核糖核苷酸(其可進一步經修飾，如下文例如針對ARCA所論述)。在帽0中，mRNA之第一及第二帽-近端核苷酸之核糖皆包括2’-羥基。在帽1中，mRNA之第一及第二轉錄核苷酸之核糖分別包括2’-甲氧基及2’-羥基。在帽2中，mRNA之第一及第二帽-近端核苷酸之核糖皆包括2’-甲氧基。例如參見Katibah等人(2014) *Proc Natl Acad Sci USA* 111(33):12025-30 ； Abbas 等 人 (2017) *Proc Natl Acad Sci USA* 114(11):E2106-E2115。大部分內源性高級真核mRNA (包含哺乳動物mRNA，例如人類mRNA)包括帽1或帽2。帽0及其他不同於帽1及帽2之帽結構可在哺乳動物(例如人類)中具有免疫原性，此乃因其由先天性免疫系統之組分(例如IFIT-1及IFIT-5)識別為「非自身」，此可升高細胞介素(包含I型干擾素)之含量。先天性免疫系統之組分(例如IFIT-1及IFIT-5)亦可與eIF4E競爭結合具有除帽1或帽2外之帽之mRNA，從而潛在地抑制mRNA轉譯。

【0134】 可共轉錄性地包含帽。舉例而言，ARCA (抗-反向帽類似物；Thermo Fisher Scientific目錄編號：AM8045)係包括連接至鳥嘌呤核糖核苷酸之5’位之7-甲基鳥嘌呤3’-甲氧基-5’-三磷酸酯之帽類似物，其可在開始時活體外納入轉錄物中。ARCA產生帽0，其中第一帽-近端核苷酸之2’位係羥基。例如參見Stepinski等人(2001)「Synthesis and properties of mRNAs containing the novel 「anti-reverse 」 cap analogs 7-methyl(3'-O-methyl)GpppG and 7-

methyl(3'deoxy)GpppG,」 *RNA* 7: 1486-1495。ARCA結構展示於下文中。



【0135】可使用CleanCap™ AG (m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pG；TriLink Biotechnologies目錄編號：N-7113)或CleanCap™ GG (m7G(5')ppp(5')(2'OMeG)pG；TriLink Biotechnologies目錄編號：N-7133)來共轉錄性地提供帽1結構。亦可自TriLink Biotechnologies分別以目錄編號：N-7413及N-7433獲得CleanCap™ AG及CleanCap™ GG之3'-O-甲基化形式。CleanCap™ AG結構展示於下文中。



【0136】或者，可在轉錄後將帽添加至RNA中。舉例而言，牛痘封端酶市面有售(New England Biolabs目錄編號：M2080S)且具有RNA三磷酸酯及鳥苷醯基轉移酶活性(由其D1亞單元提供)及鳥嘌呤甲基轉移酶(由其D12亞單元提供)。因此，可在S-腺苷甲硫胺酸及

GTP存在下將7-甲基鳥嘌呤添加至RNA中以得到帽0。例如參見Guo, P.及Moss, B. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 4023-4027；Mao, X.及Shuman, S. (1994) *J. Biol. Chem.* 269, 24472-24479。

【0137】 在一些實施例中，mRNA進一步包括聚腺苷酸化(聚A)尾部。在一些實施例中，聚A尾部包括至少20、30、40、50、60、70、80、90或100個腺嘌呤、視情況最多300個腺嘌呤。在一些實施例中，聚A尾部包括95、96、97、98、99或100個腺嘌呤核苷酸。

D. 核糖核蛋白複合物

【0138】 在一些實施例中，涵蓋一種組合物，其包括一或多個包括表1之一或多個嚮導序列之gRNA或表2之一或多個sgRNA及RNA引導之DNA結合劑(例如核酸酶，例如Cas核酸酶，例如Cas9)。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑具有裂解酶活性，其亦可稱為雙鏈內核酸酶活性。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑包括Cas核酸酶。Cas9核酸酶之實例包含釀膿鏈球菌、金黃色葡萄球菌(*S. aureus*)及其他原核生物(例如參見下一段落中之清單)之II型CRISPR系統及其經修飾(例如改造或突變)形式。例如參見US2016/0312198 A1；US 2016/0312199 A1。Cas核酸酶之其他實例包含III型CRISPR系統之Csm或Cmr複合物或其Cas10、Csm1或Cmr2亞單元；及I型CRISPR系統之級聯複合物或其Cas3亞單元。在一些實施例中，Cas核酸酶可來自IIA型、IIB型或IIC型系統。關於各種CRISPR系統及Cas核酸酶之論述，參見(例如) Makarova等人，NAT. REV. MICROBIOL. 9:467-477 (2011)；Makarova等人，NAT. REV.

MICROBIOL, 13: 722-36 (2015)；Shmakov等人，MOLECULAR CELL, 60:385-397 (2015)。

【0139】 可衍生Cas核酸酶之非限制性實例性物種包含釀膿鏈球菌、嗜熱鏈球菌(Streptococcus thermophilus)、鏈球菌屬(Streptococcus sp.)、金黃色葡萄球菌、英諾克李斯特氏菌(Listeria innocua)、加氏乳桿菌(Lactobacillus gasseri)、新兇手弗朗西絲菌(Francisella novicida)、產琥珀酸沃林氏菌(Wolinella succinogene)、華德薩特菌(Sutterella wadsworthensis)、γ-變形菌(Gammaproteobacterium)、腦膜炎雙球菌(Neisseria meningitidis)、空腸曲桿菌(Campylobacter jejuni)、多殺巴斯德氏菌(Pasteurella multocida)、產琥珀酸絲狀桿菌(Fibrobacter succinogene)、深紅紅螺菌(Rhodospirillum rubrum)、達松維爾擬諾卡氏菌(Nocardiopsis dassonvillei)、始旋鏈黴菌(Streptomyces pristinaespiralis)、綠色產色鏈黴菌(Streptomyces viridochromogene)、綠色產色鏈黴菌、玫瑰鏈孢囊菌(Streptosporangium roseum)、玫瑰鏈孢囊菌、酸熱脂環酸芽胞桿菌(Alicyclobacillus acidocaldarius)、假真菌樣芽孢桿菌(Bacillus pseudomycoides)、還原硒酸鹽芽孢桿菌(Bacillus selenitireducens)、西伯利亞微小桿菌(Exiguobacterium sibiricum)、戴白氏乳桿菌(Lactobacillus delbrueckii)、唾液乳桿菌(Lactobacillus salivarius)、布氏乳桿菌(Lactobacillus buchneri)、齒垢密螺旋體(Treponema denticola)、海洋微顫菌(Microscilla marina)、伯克霍爾德氏菌(Burkholderiales bacterium)、食萘極單胞菌(Polaromonas naphthalenivorans)、極胞菌屬(Polaromonas sp.)、

海洋固氮藍藻(Crocosphaera watsonii)、藍桿藻屬(Cyanothece sp.)、銅綠微囊藻(Microcystis aeruginosa)、聚球藻屬(Synechococcus sp.)、阿拉伯糖醋鹽桿菌(Acetohalobium arabaticum)、丹氏製胺菌(Ammonifex degensii)、熱角軍纖維素菌(Caldicelulosiruptor becscii)、礦菌(Candidatus desulforudis)、肉毒梭狀芽孢桿菌(Clostridium botulinum)、難養芽胞梭菌(Clostridium difficile)、大芬戈爾德菌(Finegoldia magna)、嗜熱鹽鹼厭氧菌(Natranaerobius thermophilus)、嗜熱丙酸降解發酵菌(Pelotomaculum thermopropionicum)、嗜酸性喜溫硫桿菌(Acidithiobacillus caldus)、嗜酸性氧化亞鐵硫桿菌(Acidithiobacillus ferrooxidans)、酒色別樣著色菌(Allochromatium vinosum)、海桿菌屬(Marinobacter sp.)、嗜鹽亞消化球菌(Nitrosococcus halophilus)、亞硝化球菌(Nitrosococcus watsoni)、假交替單胞菌(Pseudoalteromonas haloplanktis)、消旋纖線桿菌(Ktedonobacter racemifer)、甲烷鹽菌(Methanohalobium evestigatum)、魚腥藻(Anabaena variabilis)、泡沫節球藻(Nodularia spumigena)、念珠藻屬(Nostoc sp.)、極大螺旋藻(Arthrospira maxima)、鈍頂螺旋藻(Arthrospira platensis)、螺旋藻屬(Arthrospira sp.)、林氏藻屬(Lyngbya sp.)、原型微鞘藻(Microcoleus chthonoplastes)、顫藻屬(Oscillatoria sp.)、石袍藻(Petrotoga mobilis)、非洲棲熱腔菌(Thermosipho africanus)、巴氏鏈球菌(Streptococcus pasteurianus)、灰色奈瑟球菌(Neisseria cinerea)、紅嘴鷗彎曲桿菌(Campylobacter lari)、食清潔劑細小棒菌(Parvibaculum lavamentivorans)、白喉棒狀桿菌(Corynebacterium

diphtheria)、胺基酸球菌屬(Acidaminococcus sp.)、毛螺科菌(Lachnospiraceae bacterium) ND2006及藻青菌(Acaryochloris marina)。

【0140】在一些實施例中，Cas核酸酶係來自釀膿鏈球菌之Cas9核酸酶。在一些實施例中，Cas核酸酶係來自嗜熱鏈球菌之Cas9核酸酶。在一些實施例中，Cas核酸酶係來自腦膜炎雙球菌之Cas9核酸酶。在一些實施例中，Cas核酸酶係來自金黃色葡萄球菌之Cas9核酸酶。在一些實施例中，Cas核酸酶係來自新兇手弗朗西絲菌之Cpf1核酸酶。在一些實施例中，Cas核酸酶係來自胺基酸球菌屬之Cpf1核酸酶。在一些實施例中，Cas核酸酶係來自毛螺科菌ND2006之Cpf1核酸酶。在其他實施例中，Cas核酸酶係來自以下物種之Cpf1核酸酶：土倫病弗朗西斯氏菌(*Francisella tularensis*)、毛螺科菌、解蛋白*丁酸弧菌*(*Butyrivibrio proteoclasticus*)、佩萊格裡尼菌科細菌(*Peregrinibacteria bacterium*)、帕庫菌科細菌(*Parcubacteria bacterium*)、史密斯氏菌(*Smithella*)、胺基酸球菌、候選白蟻甲烷枝原體(*Candidatus Methanoplasma termitum*)、挑剔真桿菌(*Eubacterium eligens*)、牛眼莫拉氏菌(*Moraxella bovoculi*)、稻田鉤端螺旋體(*Leptospira inadai*)、狗口腔卟啉單胞菌(*Porphyromonas crevioricanis*)、解糖胨普雷沃菌(*Prevotella disiens*)或獼猴卟啉單胞菌(*Porphyromonas macacae*)。在某些實施例中，Cas核酸酶係來自胺基酸球菌或毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)之Cpf1核酸酶。

【0141】在一些實施例中，gRNA以及RNA引導之DNA結合劑稱為核糖核蛋白複合物(RNP)。在一些實施例中，RNA引導之DNA

結合劑係Cas核酸酶。在一些實施例中，gRNA以及Cas核酸酶稱為Cas RNP。在一些實施例中，RNP包括I型、II型或III型組分。在一些實施例中，Cas核酸酶係來自II型CRISPR/Cas系統之Cas9蛋白。在一些實施例中，gRNA以及Cas9稱為Cas9 RNP。

【0142】野生型Cas9具有兩個核酸酶結構域：RuvC及HNH。RuvC結構域裂解非靶DNA鏈，且HNH結構域裂解DNA之靶鏈。在一些實施例中，Cas9蛋白包括一個以上RuvC結構域及/或一個以上HNH結構域。在一些實施例中，Cas9蛋白係野生型Cas9。在組合物、用途及方法實施例中之每一者中，Cas誘導靶DNA中之雙鏈斷裂。

【0143】在一些實施例中，使用嵌合Cas核酸酶，其中蛋白質之一個結構域或區域由不同蛋白質之一部分代替。在一些實施例中，Cas核酸酶結構域可經來自不同核酸酶(例如Fok1)之結構域代替。在一些實施例中，Cas核酸酶可為經修飾核酸酶。

【0144】在其他實施例中，Cas核酸酶可來自I型CRISPR/Cas系統。在一些實施例中，Cas核酸酶可為I型 CRISPR/Cas系統之級聯複合物之組分。在一些實施例中，Cas核酸酶可為Cas3蛋白。在一些實施例中，Cas核酸酶可來自III型CRISPR/Cas系統。在一些實施例中，Cas核酸酶可具有RNA裂解活性。

【0145】在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑具有單鏈切割酶活性，亦即可切割一條DNA鏈以產生單鏈斷裂，亦稱為「切割」。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑包括Cas切割酶。切割酶係在dsDNA中產生切割(亦即切割一條鏈，但並不切割DNA雙螺

旋之另一條鏈)之酶。在一些實施例中，Cas切割酶係Cas核酸酶(例如上述Cas核酸酶)之一種形式，其中核酸內切溶解活性位點(例如)由催化結構域中之一或多個改變(例如點突變)不活化。例如參見美國專利第8,889,356號，其論述Cas切割酶及實例性催化結構域改變。在一些實施例中，Cas切割酶(例如Cas9切割酶)具有不活化RuvC或HNH結構域。

【0146】在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑經修飾以僅含有一個功能核酸酶結構域。舉例而言，可修飾藥劑蛋白，從而一個核酸酶結構域發生突變或完全或部分地缺失以減小其核酸裂解活性。在一些實施例中，使用具有較小活性RuvC結構域之切割酶。在一些實施例中，使用具有惰性RuvC結構域之切割酶。在一些實施例中，使用具有較小活性HNH結構域之切割酶。在一些實施例中，使用具有惰性HNH結構域之切割酶。

【0147】在一些實施例中，取代Cas蛋白核酸酶結構域內之保守胺基酸以減小或改變核酸酶活性。在一些實施例中，Cas核酸酶可在RuvC或RuvC樣核酸酶結構域中包括胺基酸取代。RuvC或RuvC樣核酸酶結構域中之實例性胺基酸取代包含D10A (基於釀膿鏈球菌Cas9蛋白)。例如參見Zetsche等人(2015) *Cell* Oct 22:163(3): 759-771。在一些實施例中，Cas核酸酶可在HNH或HNH樣核酸酶結構域中包括胺基酸取代。HNH或HNH樣核酸酶結構域中之實例性胺基酸取代包含E762A、H840A、N863A、H983A及D986A (基於釀膿鏈球菌Cas9蛋白)。例如參見Zetsche等人(2015)。其他實例性胺基酸取代包含D917A、E1006A及D1255A (基於新兇手弗朗西絲菌U112 Cpf1

(FnCpf1)序列 (UniProtKB - A0Q7Q2 (CPF1_FRATN))。

【0148】 在一些實施例中，提供與一對嚮導RNA組合之編碼切割酶之mRNA，該等嚮導RNA分別與靶序列之有義鏈及反義鏈互補。在此實施例中，嚮導RNA將切割酶引導至靶序列且藉由在靶序列之相反鏈上生成切割(亦即雙重切割)來引入DSB。在一些實施例中，使用雙重切割可改良特異性且減小脫靶效應。在一些實施例中，使用切割酶以及兩個靶向DNA之相反鏈之單獨嚮導RNA來在靶DNA中產生雙重切割。在一些實施例中，使用切割酶以及兩個經選擇以緊鄰之單獨嚮導RNA來在靶DNA中產生雙重切割。

【0149】 在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑缺乏裂解酶及切割酶活性。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑包括dCas DNA結合性多肽。dCas多肽具有DNA結合活性，而基本上缺乏催化(裂解酶/切割酶)活性。在一些實施例中，dCas多肽係dCas9多肽。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑缺乏裂解酶及切割酶活性或dCas DNA結合性多肽係Cas核酸酶(例如上述Cas核酸酶)之一種形式，其中其核酸內切溶解活性位點(例如)由其催化結構域中之一或多個改變(例如點突變)不活化。例如參見US 2014/0186958 A1；US 2015/0166980 A1。

【0150】 在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑包括一或多個異源性功能結構域(例如係或包括融合多肽)。

【0151】 在一些實施例中，異源性功能結構域可促進RNA引導之DNA結合劑向細胞核之傳輸。舉例而言，異源性功能結構域可為核定位信號(NLS)。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑可與1-

10個NLS融合。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑可與1-5個NLS融合。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑可與一個NLS融合。在使用一個NLS之情形下，NLS可連接於RNA引導之DNA結合劑序列之N-末端或C-末端處。其亦可插入RNA引導之DNA結合劑序列內。在其他實施例中，RNA引導之DNA結合劑可與一個以上NLS融合。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑可與2、3、4或5個NLS融合。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑可與兩個NLS融合。在某些情況下，兩個NLS可相同(例如兩個SV40 NLS)或不同。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑融合至兩個連接於羧基末端處之SV40 NLS序列。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑可與兩個NLS融合，一個連接於N-末端處且一個連接於C-末端處。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑可與3個NLS融合。在一些實施例中，RNA引導之DNA結合劑可不與NLS融合。在一些實施例中，NLS可為單組分序列，例如SV40 NLS、PKKKRKV (SEQ ID NO: 600)或PKKKRRV (SEQ ID NO: 601)。在一些實施例中，NLS可為二組分序列，例如核質蛋白、KRPAATKKAGQAKKKK (SEQ ID NO: 602)之NLS。在一具體實施例中，單一PKKKRKV (SEQ ID NO: 600) NLS可連接於RNA引導之DNA結合劑之C-末端處。一或多個連接體視情況包含於融合位點處。

【0152】在一些實施例中，異源性功能結構域可能能夠改良RNA引導之DNA結合劑之細胞內半衰期。在一些實施例中，可增加RNA引導之DNA結合劑之半衰期。在一些實施例中，可減小RNA引導之DNA結合劑之半衰期。在一些實施例中，異源性功能結構域可

能能夠增加RNA引導之DNA結合劑之穩定性。在一些實施例中，異源性功能結構域可能能夠減小RNA引導之DNA結合劑之穩定性。在一些實施例中，異源性功能結構域可用作蛋白質降解之信號肽。在一些實施例中，蛋白質降解可由蛋白水解酶(例如蛋白酶體、溶酶體蛋白酶或鈣蛋白酶蛋白酶)調介。在一些實施例中，異源性功能結構域可包括PEST序列。在一些實施例中，可藉由添加泛素或聚泛素鏈來修飾RNA引導之DNA結合劑。在一些實施例中，泛素可為泛素樣蛋白(UBL)。泛素樣蛋白之非限制性實例包含小泛素樣修飾因子(SUMO)、泛素交叉反應性蛋白(UCRP，亦稱為干擾素刺激基因-15(ISG15))、泛素相關修飾因子-1 (URM1)、神經元前體細胞表現之發育下調蛋白-8 (NEDD8，亦稱為釀酒酵母(*S. cerevisiae*)中之Rub1)、人類白血球抗原F相關因子(FAT10)、自體吞噬-8 (ATG8)及-12 (ATG12)、Fau泛素樣蛋白(FUB1)、膜錨定UBL (MUB)、泛素摺疊修飾因子-1 (UFM1)及泛素樣蛋白-5 (UBL5)。

【0153】 在一些實施例中，異源性功能結構域可為標記物結構域。標記物結構域之非限制性實例包含螢光蛋白、純化標籤、表位標籤及報告基因序列。在一些實施例中，標記物結構域可為螢光蛋白。適宜螢光蛋白之非限制性實例包含綠色螢光蛋白(例如GFP、GFP-2、tagGFP、turboGFP、sfGFP、EGFP、Emerald、Azami Green、Monomeric Azami Green、CopGFP、AceGFP、ZsGreen1)、黃色螢光蛋白(例如YFP、EYFP、Citrine、Venus、YPet、PhiYFP、ZsYellow1)、藍色螢光蛋白(例如EBFP、EBFP2、Azurite、mKalamal、GFPuv、Sapphire、T-sapphire)、青色螢光蛋白(例如

ECFP、Cerulean、CyPet、AmCyan1、Midoriishi-Cyan)、紅色螢光蛋白(例如mKate、mKate2、mPlum、DsRed-Monomer、mCherry、mRFP1、DsRed-Express、DsRed2、DsRed-Monomer、HcRed-Tandem、HcRed1、AsRed2、eqFP611、mRasberry、mStrawberry、Jred)及橙色螢光蛋白(mOrange、mKO、Kusabira-Orange、Monomeric Kusabira-Orange、mTangerine、tdTomato)或任一其他適宜螢光蛋白。在其他實施例中，標記物結構域可為純化標籤及/或表位標籤。非限制性實例性標籤包含麩胱甘肽-S-轉移酶(GST)、殼多糖結合蛋白(CBP)、麥芽糖結合蛋白(MBP)、硫氧還蛋白(TRX)、聚(NANP)、串聯親和純化(TAP)標籤、myc、AcV5、AU1、AU5、E、ECS、E2、FLAG、HA、nus、Softag 1、Softag 3、Strep、SBP、Glu-Glu、HSV、KT3、S、S1、T7、V5、VSV-G、6xHis、8xHis、生物素羧基載體蛋白(BCCP)、聚His及鈣調蛋白。非限制性實例性報告基因包含麩胱甘肽-S-轉移酶(GST)、辣根過氧化物酶(HRP)、氯黴素(chloramphenicol)乙醯基轉移酶(CAT)、β-半乳糖苷酶、β-葡糖醛酸糖苷酶、螢光素酶或螢光蛋白。

【0154】在其他實施例中，異源性功能結構域可使RNA引導之DNA結合劑靶向特定細胞器、細胞類型、組織或器官。在一些實施例中，異源性功能結構域可使RNA引導之DNA結合劑靶向線粒體。

【0155】在其他實施例中，異源性功能結構域可為效應結構域。在將RNA引導之DNA結合劑引導至其靶序列時(例如在藉由gRNA將Cas核酸酶引導至靶序列時)，效應結構域可修飾或影響靶序列。在一些實施例中，效應結構域可選自核酸結合結構域、核酸酶結

構域(例如非Cas核酸酶結構域)、表觀遺傳修飾結構域、轉錄活化結構域或轉錄阻抑結構域。在一些實施例中，異源性功能結構域係核酸酶(例如FokI核酸酶)。例如參見美國專利第9,023,649號。在一些實施例中，異源性功能結構域係轉錄活化因子或阻抑因子。例如參見Qi等人，「Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression,」 *Cell* 152:1173-83 (2013)；Perez-Pinera等人，「RNA-guided gene activation by CRISPR-Cas9-based transcription factors,」 *Nat. Methods* 10:973-6 (2013)；Mali等人，「CAS9 transcriptional activators for target specificity screening and paired nickases for cooperative genome engineering,」 *Nat. Biotechnol.* 31:833-8 (2013)；Gilbert等人，「CRISPR-mediated modular RNA-guided regulation of transcription in eukaryotes,」 *Cell* 154:442-51 (2013)。因此，RNA引導之DNA結合劑基本上變為可使用嚮導RNA引導結合期望靶序列之轉錄因子。

E. gRNA效能之測定

【0156】在一些實施例中，在與形成RNP之其他組分一起遞送或表現時，測定gRNA效能。在一些實施例中，表現gRNA以及RNA引導之DNA結合劑(例如Cas蛋白，例如Cas9)。在一些實施例中，將gRNA遞送至或表現於已穩定表現RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶或切割酶，例如Cas9核酸酶或切割酶)之細胞系中。在一些實施例中，將gRNA作為RNP之一部分遞送至細胞中。在一些實施例中，將gRNA以及編碼RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶或切割酶，

例如Cas9核酸酶或切割酶)之mRNA遞送至細胞中。

【0157】 如本文所闡述，使用本文所揭示之RNA引導之DNA核酸酶及嚮導RNA可在DNA中產生雙鏈斷裂，該等雙鏈斷裂可在藉由細胞機構修復時產生呈插入/缺失(插入缺失)突變形式之錯誤。許多由插入缺失所致之突變改變了讀取框或引入過早終止密碼子且由此產生非功能蛋白。

【0158】 在一些實施例中，基於活體外模型來測定特定gRNA之效能。在一些實施例中，活體外模型係穩定表現Cas9之HEK293細胞(HEK293_Cas9)。在一些實施例中，活體外模型係HUH7人類肝癌細胞。在一些實施例中，活體外模型係HepG2細胞。在一些實施例中，活體外模型係原代人類肝細胞。在一些實施例中，活體外模型係原代食蟹猴肝細胞。就使用原代人類肝細胞而言，可使用市售原代人類肝細胞以在實驗之間提供較大一致性。在一些實施例中，藉由(例如)分析在活體外使用Cas9 mRNA及嚮導RNA轉染之原代人類肝細胞之基因體DNA來測定活體外模型(例如原代人類肝細胞)中發生缺失或插入之脫靶位點的數量。在一些實施例中，此一測定包括分析在活體外使用Cas9 mRNA、嚮導RNA及供體寡核苷酸轉染之原代人類肝細胞之基因體DNA。用於該等測定之實例性程序提供於下文之工作實例中。

【0159】 在一些實施例中，在gRNA選擇製程之多個活體外細胞模型中測定特定gRNA之效能。在一些實施例中，使用所選gRNA實施細胞係數據對比。在一些實施例中，在多個細胞模型中實施交叉篩選。

【0160】在一些實施例中，基於活體內模型來測定特定gRNA之效能。在一些實施例中，活體內模型係齧齒類動物模型。在一些實施例中，齧齒類動物模型係表現*LDHA*基因之小鼠。在一些實施例中，齧齒類動物模型係表現人類*LDHA*基因之小鼠。在一些實施例中，活體內模型係非人類靈長類動物(例如食蟹猴)。

【0161】在一些實施例中，藉由*LDHA*之編輯百分比來量測嚮導RNA之效能。在一些實施例中，將*LDHA*之編輯百分比與達成(例如)來自全細胞溶解物(在活體外模型之情形下)或組織(在活體內模型之情形下)之LDHA蛋白之敲低的所需編輯百分比進行比較。

【0162】在一些實施例中，藉由靶細胞類型之基因體內脫靶序列處之插入缺失之數量及/或頻率來量測嚮導RNA的效能。在一些實施例中，提供有效嚮導RNA，其在細胞群體中於脫靶位點處及/或相對於靶位點處之插入缺失產生頻率以極低頻率(例如<5%)產生插入缺失。因此，本發明提供如下嚮導RNA：其在靶細胞類型(例如肝細胞)中不展現脫靶插入缺失形成，或其在細胞群體中及/或相對於靶位點處之插入缺失產生頻率產生<5%之脫靶插入缺失形成頻率。在一些實施例中，本發明提供在靶細胞類型(例如肝細胞)中不展現任何脫靶插入缺失形成之嚮導RNA。在一些實施例中，提供在小於5個脫靶位點處產生插入缺失之嚮導RNA，例如如藉由本文所闡述之一或多種方法所評估。在一些實施例中，提供在小於或等於4、3、2或1個脫靶位點處產生插入缺失之嚮導RNA，例如如藉由本文所闡述之一或多種方法所評估。在一些實施例中，脫靶位點不出現於靶細胞(例如肝細胞)基因體中之蛋白質編碼區中。

【0163】在一些實施例中，檢測靶DNA中之基因編輯事件(例如形成插入/缺失(「插入缺失」)突變及同源定向修復(HDR)事件)利用使用加標籤引子之線性擴增且分離加標籤擴增產物(在下文中稱為「LAM-PCR」或「線性擴增(LA)」方法)。

【0164】在一些實施例中，藉由量測試樣(例如體液，例如血清、血漿、血液或尿)中之羥基乙酸鹽含量及/或草酸鹽含量來量測嚮導RNA之效能。在一些實施例中，藉由量測血清或血漿中之羥基乙酸鹽含量及/或尿中之草酸鹽含量來量測嚮導RNA之效能。血清或血漿中之羥基乙酸鹽含量增加及/或尿中之草酸鹽含量降低指示有效嚮導RNA。在一些實施例中，尿草酸鹽降至低於0.7 mmol/24 hr/1.73m^2。在一些實施例中，使用酶聯免疫吸附分析(ELISA)分析利用細胞培養基或血清或血漿來量測羥基乙酸鹽及草酸鹽之含量。在一些實施例中，在用於量測編輯之相同活體外或活體內系統或模型中量測羥基乙酸鹽及草酸鹽之含量。在一些實施例中，在細胞(例如原代人類肝細胞)中量測羥基乙酸鹽及草酸鹽之含量。在一些實施例中，在HUH7細胞中量測羥基乙酸鹽及草酸鹽之含量。在一些實施例中，在HepG2細胞中量測羥基乙酸鹽及草酸鹽之含量。

III. 治療方法

【0165】本文所揭示之gRNA以及相關方法及組合物可用於誘導*LDHA*基因內之雙鏈斷裂(DSB)且減小*LDHA*基因表現。本文所揭示之gRNA以及相關方法及組合物可用於治療及預防高草酸鹽尿症且預防高草酸鹽尿症症狀。在一些實施例中，本文所揭示之gRNA可用於治療及預防草酸鈣產生、器官中之草酸鈣沈積、原發性高草酸鹽尿

症(包含PH1、PH2及PH3)、草酸鹽沈積症(包含全身性草酸鹽沈積症)及血尿症。在一些實施例中，本文所揭示之gRNA可用於延遲或改善腎或肝移植需要。在一些實施例中，本文所揭示之gRNA可用於預防晚期腎病(ESRD)。投與本文所揭示之gRNA將增加血清或血漿羥基乙酸鹽且降低草酸鹽產生或累積，從而在尿中排泄較少草酸鹽。因此，在一態樣中，可藉由量測血清或血漿羥基乙酸鹽來評價治療/預防之有效性，其中羥基乙酸鹽含量增加指示有效性。在一些實施例中，可藉由量測試樣中之草酸鹽(例如尿草酸鹽)來評價治療/預防之有效性，其中尿草酸鹽降低指示有效性。

【0166】健康個體之尿中之正常日草酸鹽排泄小於約45 mg，而超過約45 mg/24小時之濃度可視為臨床高草酸鹽尿症(例如參見Bhasin等人，World J Nephrol，2015年5月6日；4(2): 235-244；及Cochat P., Rumsby G. (2013). N Engl J Med 369:649-658)。因此，在一些實施例中，投與本文所揭示之gRNA及組合物可用於減小草酸鹽含量，從而個體不再展現與臨床高草酸鹽尿症有關之尿草酸鹽含量。在一些實施例中，投與本文所揭示之gRNA及組合物將個體在24-小時時段內之尿草酸鹽減少至小於約45 mg或40 mg。在一些實施例中，投與本文所揭示之gRNA及組合物可將個體在24-小時時段內之尿草酸鹽減少至小於約35 mg、小於約30 mg、小於約25 mg、小於約20 mg、小於約15 mg或小於約10 mg。

【0167】在一些實施例中，本文所闡述之gRNA、組合物或醫藥調配物中之任一者或多者係用以製備用於治療或預防個體之疾病或病症之藥劑。在一些實施例中，使用單一劑量(例如一次性治療)之藥

劑/組合物來達成治療及/或預防。在一些實施例中，疾病或病症係高草酸鹽尿症。

【0168】 在一些實施例中，本發明包括治療或預防個體之疾病或病症之方法，其包括投與本文所闡述之gRNA、組合物或醫藥調配物中之任一者或多者。在一些實施例中，疾病或病症係高草酸鹽尿症。在一些實施例中，以單一劑量形式(例如一次性)投與本文所闡述之gRNA、組合物或醫藥調配物。在一些實施例中，單一劑量達成持久治療及/或預防。在一些實施例中，該方法達成持久治療及/或預防。本文所用之持久治療及/或預防包含至少延長以下時間之治療及/或預防：i) 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15週；ii) 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、30或36個月；或iii) 1、2、3、4、5、6、7、8、9或10年。在一些實施例中，單一劑量之本文所闡述之gRNA、組合物或醫藥調配物足以治療及/或預防本文所闡述之任一適應症且在個體中持續一生。

【0169】 在一些實施例中，本發明包括用於修飾(例如產生雙鏈斷裂)靶DNA之方法或用途，其包括投與或遞送本文所闡述之gRNA、組合物或醫藥調配物中之任一者或多者。在一些實施例中，靶DNA係*LDHA*基因。在一些實施例中，靶DNA位於*LDHA*基因之外顯子中。在一些實施例中，靶DNA位於*LDHA*基因之外顯子1、2、3、4、5、6、7或8中。

【0170】 在一些實施例中，本發明包括用於調節靶基因之方法或用途，其包括投與或遞送本文所闡述之gRNA、組合物或醫藥調配物中之任一者或多者。在一些實施例中，調節係編輯*LDHA*靶基因。

在一些實施例中，調節係改編由*LDHA*靶基因編碼之蛋白質之表現。

【0171】在一些實施例中，該方法或用途產生基因編輯。在一些實施例中，該方法或用途在靶*LDHA*基因內產生雙鏈斷裂。在一些實施例中，該方法或用途使得在DSB之非同源端接合期間形成插入缺失突變。在一些實施例中，該方法或用途所得在靶*LDHA*基因中插入或缺失核苷酸。在一些實施例中，在靶*LDHA*基因中插入或缺失核苷酸可產生框移突變或過早終止密碼子，從而得到非功能蛋白。在一些實施例中，在靶*LDHA*基因中插入或缺失核苷酸可敲低或消除靶基因表現。在一些實施例中，該方法或用途包括DSB之同源性引導修復。

【0172】在一些實施例中，該方法或用途產生*LDHA*基因調節。在一些實施例中，*LDHA*基因調節係降低基因表現。在一些實施例中，該方法或用途可降低由靶基因編碼之蛋白質之表現。

【0173】在一些實施例中，提供誘導*LDHA*基因內之雙鏈斷裂(DSB)之方法，其包括投與包括以下各項之組合物：包括SEQ ID NO:1-84中之任一或多個嚮導序列之嚮導RNA；或以下SEQ ID NO中之任一或多個sgRNA：1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081或其經修飾形式(如例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)。在一些實施例中，投與包括SEQ ID NO:1-84及100-192中之任一或多個嚮導序列之gRNA以誘導*LDHA*基因中之DSB。可投與嚮導RNA以及RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas

核酸酶，例如Cas9)或編碼RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)之mRNA或載體。

【0174】 在一些實施例中，提供修飾*LDHA*基因之方法，其包括投與包括以下之組合物：包括SEQ ID NO:1-84中之任一或多個嚮導序列之嚮導RNA；或以下SEQ ID NO中之任一或多個sgRNA：1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081或其經修飾形式(如例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)。在一些實施例中，投與包括SEQ ID NO:1-84中之任一或多個嚮導序列之gRNA或SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081或其經修飾形式(如例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081所展示)中之任一或多個sgRNA以修飾*LDHA*基因。可投與嚮導RNA以及RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)或編碼RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)之mRNA或載體。

【0175】 在一些實施例中，提供治療或預防高草酸鹽尿症之方法，其包括投與包括以下之組合物：包括SEQ ID NO:1-84中之任一或多個嚮導序列之嚮導RNA；或以下SEQ ID NO中之任一或多個

sgRNA：1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081或其經修飾形式(如例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)。在一些實施例中，投與包括SEQ ID NO:1-84中之任一或多個嚮導序列之gRNA或SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081或其經修飾形式(如例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)中之任一或多個sgRNA以治療或預防高草酸鹽尿症。可投與嚮導RNA以及RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)或編碼RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)之mRNA或載體。在一些實施例中，高草酸鹽尿症係原發性高草酸鹽尿症。在一些實施例中，原發性高草酸鹽尿症係1型(PH1)、2型(PH2)或3型(PH3)。在一些實施例中，高草酸鹽尿症係特發性的。

【0176】在一些實施例中，提供降低或消除草酸鈣產生及/或沈積之方法，其包括投與包括SEQ ID NO:1-84中之任一或多個嚮導序列之嚮導RNA或SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081或其經修飾形式(如例如在

SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)中之任一或多個sgRNA。可投與嚮導RNA以及RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)或編碼RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)之mRNA或載體。

【0177】在一些實施例中，提供治療或預防原發性高草酸鹽尿症(包含PH1、PH2或PH3)之方法，其包括投與包括SEQ ID NO:1-84中之任一或多個嚮導序列之嚮導RNA或SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081或其經修飾形式(如例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)中之任一或多個sgRNA。可投與嚮導RNA以及RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)或編碼RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)之mRNA或載體。

【0178】在一些實施例中，提供治療或預防草酸鹽沈積症(包含全身性草酸鹽沈積症)之方法，其包括投與包括SEQ ID NO:1-84中之任一或多個嚮導序列之嚮導RNA或SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081或其經修飾形式(如例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、

2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)中之任一或多個sgRNA。可投與嚮導RNA以及RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)或編碼RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)之mRNA或載體。

【0179】在一些實施例中，提供治療或預防血尿症之方法，其包括投與包括SEQ ID NO:1-84中之任一或多個嚮導序列之嚮導RNA或SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081或其經修飾形式(如例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)中之任一或多個sgRNA。可投與嚮導RNA以及RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)或編碼RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)之mRNA或載體。

【0180】在一些實施例中，投與包括SEQ ID NO:1-84及100-192中之任一或多個嚮導序列之gRNA或SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081或其經修飾形式(如例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)中之任一或多個sgRNA以減小尿中之草酸鹽含量。可投與gRNA以及RNA引導

之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)或編碼RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)之mRNA或載體。

【0181】在一些實施例中，投與包括SEQ ID NO:1-84及100-192中之任一或多個嚮導序列之gRNA或SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081或其經修飾形式(如、例如在SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中所展示)中之任一或多個sgRNA以增加血清或血漿中之血清羥基乙酸鹽。可投與gRNA以及RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)或編碼RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶，例如Cas9)之mRNA或載體。

【0182】在一些實施例中，包括表1之嚮導序列之gRNA與RNA引導之DNA核酸酶(例如Cas核酸酶)一起可誘導DSB，且修復期間之非同源端接合(NHEJ)會在*LDHA*基因中產生突變。在一些實施例中，NHEJ使得缺失或插入核苷酸，此會誘導*LDHA*基因中之框移或無義突變。

【0183】在一些實施例中，投與本發明之嚮導RNA (例如於本文所提供之組合物中)可增加個體中之羥基乙酸鹽含量(例如血清或血漿含量)，且由此預防草酸鹽累積。

【0184】在一些實施例中，增加血清羥基乙酸鹽可降低尿草酸鹽。在一些實施例中，減少尿草酸鹽可減小或消除器官中之草酸鈣形成及沈積。

【0185】在一些實施例中，個體係哺乳動物。在一些實施例中，個體係人類。在一些實施例中，個體係牛、豬、猴、綿羊、狗、貓、魚或家禽。

【0186】在一些實施例中，提供包括表1中之任一或多個嚮導序列之嚮導RNA或表2之一或多個sgRNA (例如於本文所提供之組合物中)之用途，其用以製備用於治療患有高草酸鹽尿症之人類個體之藥劑。

【0187】在一些實施例中，經靜脈內投與嚮導RNA、組合物及調配物。在一些實施例中，將嚮導RNA、組合物及調配物投與肝循環中。

【0188】在一些實施例中，單一投與包括本文所提供之嚮導RNA之組合物足以敲低突變蛋白之表現。在其他實施例中，投與包括本文所提供之嚮導RNA之組合物一次以上可有益於最大化治療效應。

【0189】在一些實施例中，治療可減緩或終止高草酸鹽尿症疾病進展。

【0190】在一些實施例中，治療可減緩或終止晚期腎病(ESRD)之進展。在一些實施例中，治療可減緩或終止腎及/或肝移植需要。在一些實施例中，治療可改良、穩定高草酸鹽尿症症狀或減緩其變化。

A. 組合療法

【0191】在一些實施例中，本發明包括組合療法，該等組合療法包括任一包括表1中所揭示之任一或多個嚮導序列之gRNA (例如於

本文所提供之組合物中)以及適於緩解高草酸鹽尿症及其症狀(如上文所闡述)之其他療法。

【0192】 在一些實施例中，用於高草酸鹽尿症之其他療法係維他命B6、水化、腎透析或肝或腎移植。在一些實施例中，其他療法係另一破壞*LDHA*基因之藥劑，例如引導至*LDHA*基因之siRNA。在一些實施例中，引導至*LDHA*基因之siRNA係DCR-PHXC。在一些實施例中，例如在高草酸鹽尿症係由PH1引起時，其他療法係破壞*HAO1*基因之藥劑(例如引導至*HAO1*基因之siRNA)。在一些實施例中，HAO1 siRNA係盧馬西蘭(lumasiran) (ALN-GO1；Alnylam)。

【0193】 在一些實施例中，組合療法包括任一包括表1中所揭示之任一或多個嚮導序列之gRNA以及靶向*HAO1*或*LDHA*之siRNA。在一些實施例中，siRNA係任一能夠進一步減小或消除*LDHA*表現之siRNA。在一些實施例中，在任一包括表1中所揭示之任一或多個嚮導序列之gRNA (例如於本文所提供之組合物中)之後投與siRNA。在一些實施例中，在使用本文所提供之任一gRNA組合物治療後定期投與siRNA。

【0194】 在一些實施例中，組合療法包括任一包括表1中所揭示之任一或多個嚮導序列之gRNA (例如於本文所提供之組合物中)以及靶向LDHA之反義核苷酸。在一些實施例中，反義核苷酸係任一能夠進一步減小或消除LDHA表現之反義核苷酸。在一些實施例中，在任一包括表1中所揭示之任一或多個嚮導序列之gRNA (例如於本文所提供之組合物中)之後投與反義寡核苷酸。在一些實施例中，在使用本文所提供之任一gRNA組合物治療後定期投與反義寡核苷酸。

B. gRNA組合物之遞送

【0195】脂質奈米顆粒(LNP)係用於遞送核苷酸及蛋白質負荷之熟知方式，且可用於遞送本文所揭示之嚮導RNA、組合物或醫藥調配物。在一些實施例中，LNP遞送核酸、蛋白質或核酸以及蛋白質。

【0196】在一些實施例中，本發明包括將本文所揭示之任一gRNA遞送至個體之方法，其中gRNA與LNP締合。在一些實施例中，gRNA/LNP亦與Cas9或編碼Cas9之mRNA締合。

【0197】在一些實施例中，本發明包括包含所揭示任一gRNA及LNP之組合物。在一些實施例中，該組合物進一步包括Cas9或編碼Cas9之mRNA。

【0198】在一些實施例中，LNP包括陽離子脂質。在一些實施例中，LNP包括(9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛基氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八-9,12-二烯酸酯((9Z,12Z)-3-((4,4-bis(octyloxy)butanoyl)oxy)-2-((((3-(diethylamino)propoxy)carbonyl)oxy)methyl)propyl octadeca-9,12-dienoate，亦稱為3-((4,4-bis(octyloxy)butanoyl)oxy)-2-((((3-(diethylamino)propoxy)carbonyl)oxy)methyl)propyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate)或另一可離子化脂質。例如參見WO/2017/173054之脂質及其中所闡述之參考內容。在一些實施例中，LNP所包括之陽離子脂質胺對RNA磷酸酯之莫耳比率(N:P)為約4.5、5.0、5.5、6.0或6.5。在一些實施例中，LNP脂質背景中之術語陽離子及可離子化可互換使用，舉例而言，其中可離子化脂質端視

pH係陽離子。

【0199】 在一些實施例中，與本文所揭示gRNA締合之LNP係用以製備用於治療疾病或病症之藥劑。

【0200】 電穿孔係用於遞送負荷之熟知方式，且可使用任一電穿孔方法來遞送本文所揭示之任一gRNA。在一些實施例中，可使用電穿孔來遞送本文所揭示之任一gRNA及Cas9或編碼Cas9之mRNA。

【0201】 在一些實施例中，本發明包括將本文所揭示之任一gRNA遞送至離體細胞之方法，其中gRNA與LNP締合或不與LNP締合。在一些實施例中，gRNA/LNP或gRNA亦與Cas9或編碼Cas9之mRNA締合。

【0202】 在一些實施例中，將本文所闡述之嚮導RNA組合物(單獨或編碼於一或多種載體上)調配於脂質奈米顆粒中或經由脂質奈米顆粒來投與；例如參見2017年3月30日提出申請且2017年5月10日公開之標題為「LIPID NANOPARTICLE FORMULATIONS FOR CRISPR/CAS COMPONENTS」之WO/2017/173054，其全部內容之內容以引用方式併入本文中。

【0203】 在某些實施例中，本發明包括編碼任一包括本文所闡述之任一或多個嚮導序列之嚮導RNA之DNA或RNA載體。在一些實施例中，除嚮導RNA序列外，載體亦進一步包括不編碼嚮導RNA之核酸。不編碼嚮導RNA之核酸包含(但不限於)啟動子、增強子、調控序列及編碼RNA引導之DNA核酸酶(其可為諸如Cas9等核酸酶)之核酸。在一些實施例中，載體包括一或多個編碼crRNA、trRNA或crRNA及trRNA之核苷酸序列。在一些實施例中，載體包括一或多個

編碼sgRNA及編碼RNA引導之DNA核酸酶(其可為Cas核酸酶，例如Cas9或Cpf1)之mRNA之核苷酸序列。在一些實施例中，載體包括一或多個編碼crRNA、trRNA及編碼RNA引導之DNA核酸酶(其可為Cas蛋白，例如Cas9)之mRNA之核苷酸序列。在一實施例中，Cas9係來自釀膿鏈球菌(亦即Spy Cas9)。在一些實施例中，編碼crRNA、trRNA或crRNA及trRNA (其可為sgRNA)之核苷酸序列包括側接有來自天然CRISPR/Cas系統之所有或一部分重複序列之嚮導序列或由其組成。包括crRNA、trRNA或crRNA及trRNA或由其組成之核酸可進一步包括載體序列，其中該載體序列包括並非與crRNA、trRNA或crRNA及trRNA一起天然發現之核酸或由其組成。

【0204】 此闡述及實例性實施例不應視為限制性。出於本說明書及隨附申請專利範圍之目的，除非另外指示，否則說明書及申請專利範圍中所使用所有表達量、百分比或比例之數字及其他數值應理解為在所有情況下皆由術語「約」修飾，只要其尚未如此修飾。因此，除非指示相反情況，否則下列說明書及隨附申請專利範圍中所陳述之數值參數皆為可視尋求獲得之期望性質而變化的近似值。最低限度地且並非試圖限制申請專利範圍範疇之等效項之準則之應用，每一數值參數應至少根據所報告有效數字之數值且透過應用普通捨入技術來解釋。

【0205】 應注意，如本說明書及隨附申請專利範圍中所使用，除非明確且無疑地限於一種指示物，否則單數形式「一(a、an)」及「該(the)」及任一以單數使用之任一詞語包含複數個指示物。如本文中所使用，術語「包含」及其語法變化形式意欲係非限制性，從而

清單中之所列舉項目並不排除其他可代替或增加至所列示項目之類似項目。

實例

【0206】 提供下列實例以闡釋某些所揭示實施例且不應解釋為以任一方式限制本發明範圍。

【0207】 實例1 -材料及方法

【0208】 核酸酶mRNA之活體外轉錄(「IVT」)

【0209】 藉由活體外轉錄使用線性化質體DNA模板及T7 RNA聚合酶來生成含有N1-甲基假-U之封端及聚腺苷酸化釀膿鏈球菌(「Spy」) Cas9 mRNA。藉由以下方式來線性化用於產生包括本文所闡述mRNA (實例性ORF可參見下文表24中之SEQ ID NO: 501-515)之mRNA之含有T7啟動子及轉錄序列之質體DNA：在37℃下使用XbaI利用下列條件培育至完全消解：200 ng/μL質體、2 U/μL XbaI (NEB)及1×反應緩衝液。藉由將反應液在65℃下加熱20 min來不活化XbaI。使用二氧化矽maxi旋轉管柱(Epoch Life Sciences)自酶及緩衝液鹽純化線性化質體且藉由瓊脂糖凝膠分析以證實線性化。將用以生成經Cas9修飾之mRNA之IVT反應液在37℃下於下列條件中培育4小時：50 ng/μL線性化質體；2 mM GTP、ATP、CTP及N1-甲基假-UTP (Trilink)中之每一者；10 mM ARCA (Trilink)；5 U/μL T7 RNA聚合酶(NEB)；1 U/μL鼠類RNase抑制劑(NEB)；0.004 U/μL無機大腸桿菌(*E. coli*)焦磷酸酶(NEB)；及1×反應緩衝液。在4-小時培育之後，添加TURBO DNase (ThermoFisher)直至最終濃度為0.01 U/μL，且將反應液再培育30分鐘以去除DNA模板。使用MegaClear

Transcription Clean-up套組根據製造商方案(ThermoFisher)自酶及核苷酸純化Cas9 mRNA。或者，使用LiCl沈澱方法純化Cas9 mRNA，在一些情形下隨後藉由切向流過濾進一步純化。藉由量測260 nm下之吸光度(Nanodrop)來測定轉錄物濃度，且藉由毛細管電泳使用生物分析儀(Agilent)來分析轉錄物。

【0210】 實例中所使用之Cas9 mRNA轉錄序列包括選自SEQ ID NO: 501-515之序列，如表24中所展示。

【0211】 **表24**：實例性Cas9 mRNA序列

SEQ ID NO	**序列**
501	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCG GATCCGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATG GGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGA CAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGA AGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTA CCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAA GAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTC GACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACA GCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGG ACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAG CTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAA AGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGC CGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGA ACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACG ACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGC AAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAG GCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGA

SEQ ID NO	序列
	AGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGA ACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCC GATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCT GAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCA CGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAA AAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCG CATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACA AGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACG AAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAA GGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGC AATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTAC TTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAA GCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGA AAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATC GAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGA AGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAG AGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGC TGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGG

SEQ ID NO	序列
	GAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCC TGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA TCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAA AGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCG GTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGAC ATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCC CGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACA GAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGAC AGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAG GAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGA TCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACA AGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGG ACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAA CGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGA GACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCA ACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAA CGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGA CAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAA

SEQ ID NO	序列
	GAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGA CAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGAC AGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAG CGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGAC TTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACA GCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGG GAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAA GCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTA CCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAAC CTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAA AACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACAC AACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCA GAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGG AAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATG AGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAA GCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATT AATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG
502	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGACAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAU

SEQ ID NO	序列
	CACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACA GCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACA AGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGC AGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAA AGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCGUCGA CGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACA GCACAGACAAGGCAGACCUGAGACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGA GGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAGCUGUUCAU CCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCG ACGCAAAGGCAAUCCUGAGCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCA CAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACUGAGCCUGGGACU GACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGG ACACAUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUG UUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACAUCCUGAGAGUCAACAC AGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGG ACCUGACACUGCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUC UUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUU CUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGC

SEQ ID NO	序列
	UGAACAGAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAG AUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAA GGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGC UGGCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACC GUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUG ACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGC CGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGA AAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCGU CGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGA AGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUC GUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACAUACGC ACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGA AGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGG ACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACAGC CUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGA ACACAUCGCAAACCUGGCAGGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGG UCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCGUCAUCGAAAUG

SEQ ID NO	序列
	GCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAA UCGAAGAAGGAAUCAAGGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACA CAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGAGACAUGUACGUCGA CCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCU UCCUGAAGGACGACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAG AGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAACUACUGGAGACAGCUGCU GAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGAC UGAGCGAACUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACA AAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAAAGUACGACGAAAACGACAAGCU GAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACU UCCAGUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAAC GCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGG AGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAG GCAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACU GGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUC GUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAA CAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGA GAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUU

SEQ ID NO	序列
	CGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAGCA AGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGA AAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCA UCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGGCAAGC GCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUA CCUGGCAAGCCACUACGAAAAGCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGU UCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAAUUCAGCAAG AGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGA CAAGCCGAUCAGAGAACAGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAG CACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUACACAAGCACAAAG GAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGA CCUGAGCCAGCUGGGAGGAGACUAG
503	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGACAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCAC AGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCA UCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGA CUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGG AAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGC UUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCGUCGACGA

SEQ ID NO	序列
	AGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCA CAGACAAGGCAGACCUGAGACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGA CACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAGCUGUUCAUCCA GCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACG CAAAGGCAAUCCUGAGCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAG CUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACUGAGCCUGGGACUGAC ACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACA CAUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUC CUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACAUCCUGAGAGUCAACACAGA AAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACC UGACACUGCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUC GACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUA CAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGA ACAGAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUC CACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGA CAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGG CAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUG GAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAA

SEQ ID NO	序列
	ACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUAC UUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGC AUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGG UCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCGUCGAA AUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAU CAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCC UGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACAUACGCACAC CUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGAC UGAGCAGAAAGCUGAUCAACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUC CUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACAGCCUGAC AUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACA UCGCAAACCUGGCAGGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUC GACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCGUCAUCGAAAUGGCAAG AGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAA GAAGGAAUCAAGGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCU GCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGAGACAUGUACGUCGACCAGG AACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUG AAGGACGACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGA

SEQ ID NO	序列
	CAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACG
	CAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGC
	GAACUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCA
	CGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAAAGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCA
	GAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAG
	UUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGU
	CGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACU
	ACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAAC
	AGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAA
	ACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUG
	GGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAACAUCG
	UCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAAC
	AGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACA
	GCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAG
	CUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGA
	ACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAG
	CUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGGCAAGCGCAGG
	AGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGG

SEQ ID NO	序列
504	CAAGCCACUACGAAAAGCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUC GAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAAUUCAGCAAGAGAGU CAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGC CGAUCAGAGAACAGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCG GCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUACACAAGCACAAAGGAAGU CCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGA GCCAGCUGGGAGGAGAC
	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGACAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAU CACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACA GCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACA AGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGC AGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAA AGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCGUCGA CGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACA GCACAGACAAGGCAGACCUGAGACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGA GGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAGCUGUUCAU CCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCG ACGCAAAGGCAAUCCUGAGCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCA

SEQ ID NO	序列
	CAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACUGAGCCUGGGACU GACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGG ACACAUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUG UUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACAUCCUGAGAGUCAACAC AGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGG ACCUGACACUGCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUC UUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUU CUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGC UGAACAGAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAG AUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAA GGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGC UGGCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACC GUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUG ACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGC CGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGA AAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCGU CGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGA

SEQ ID NO	序列
	AGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUC GUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACAUACGC ACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGA AGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGG ACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACAGC CUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGA ACACAUCGCAAACCUGGCAGGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGG UCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCGUCAUCGAAAUG GCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAA UCGAAGAAGGAAUCAAGGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACA CAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGAGACAUGUACGUCGA CCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCU UCCUGAAGGACGACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAG AGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAACUACUGGAGACAGCUGCU GAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGAC UGAGCGAACUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACA AAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAAAGUACGACGAAAACGACAAGCU GAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACU

SEQ ID NO	序列
	UCCAGUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAAC GCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGG AGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAG GCAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACU GGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUC GUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAA CAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGA GAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUU CGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAGCA AGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGA AAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCA UCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGGCAAGC GCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUA CCUGGCAAGCCACUACGAAAAGCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGU UCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAAUUCAGCAAG AGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGA CAAGCCGAUCAGAGAACAGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAG CACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUACACAAGCACAAAG

SEQ ID NO	序列
	GAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGA CCUGAGCCAGCUGGGAGGAGACGGAAGCGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACGGA AGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACAGCGGAUAG
505	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGACAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCAC AGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCA UCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGA CUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGG AAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGC UUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCGUCGACGA AGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCA CAGACAAGGCAGACCUGAGACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGA CACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAGCUGUUCAUCCA GCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACG CAAAGGCAAUCCUGAGCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAG CUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACUGAGCCUGGGACUGAC ACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACA CAUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUC CUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACAUCCUGAGAGUCAACACAGA

SEQ ID NO	序列
	AAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACC UGACACUGCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUC GACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUA CAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGA ACAGAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUC CACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGA CAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGG CAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUG GAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAA ACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUAC UUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGC AUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGG UCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCGUCGAA AUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAU CAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCC UGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACAUACGCACAC CUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGAC UGAGCAGAAAGCUGAUCAACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUC

SEQ ID NO	序列
	CUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACAGCCUGAC AUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACA UCGCAAACCUGGCAGGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUC GACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCGUCAUCGAAAUGGCAAG AGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAA GAAGGAAUCAAGGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCU GCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGAGACAUGUACGUCGACCAGG AACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUG AAGGACGACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGA CAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACG CAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGC GAACUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCA CGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAAAGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCA GAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAG UUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGU CGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACU ACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAAC AGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAA

SEQ ID NO	序列
	ACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUG GGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAACAUCG UCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAAC AGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACA GCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAG CUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGA ACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAG CUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGGCAAGCGCAGG AGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGG CAAGCCACUACGAAAAGCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUC GAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAAUUCAGCAAGAGAGU CAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGC CGAUCAGAGAACAGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCG GCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUACACAAGCACAAAGGAAGU CCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGA GCCAGCUGGGAGGAGACGGAAGCGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACGGAAGCCCG AAGAAGAAGAGAAAGGUCGACAGCGGA
506	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCG

SEQ ID NO	序列
	GATCCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGT CATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACA CAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAAC AAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCA GGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGC TTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAA GTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAG ACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTT CCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTC CAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGA GAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTC AAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGAC GACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGA ACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACC GCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCA CTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGAT ACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCT

SEQ ID NO	序列
	GGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAA GCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATC CTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATC CTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGAT GACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGC AAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGT CCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAG TACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTC GACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGG GAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGA AGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAA AGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGAT ACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAA AGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCA CGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAG CCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGAC AGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATC

SEQ ID NO	序列
	GAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAA GAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAA CACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTC GACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCT TCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGA GCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGA ACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGA GCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGC ACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCA GAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTT CTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTC GGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGG TCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGT ACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATC AGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAG AGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGA AGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGAT CGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATA

SEQ ID NO	序列
	CAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGA ACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAA GCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCG AACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAA CTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGG GAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACG AAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAA GGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATC CACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCG ACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCA CAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGA AGAAGAAGAGAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAG AGAAAGAAAATGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACAC CCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAA ATGGAAAGAACCTCGAG
507	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCA CAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCA TCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGAC

SEQ ID NO	序列
	TGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAA TCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACcggCTGGAAGAAAGCTTCCTG GTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCAT ACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGG CAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATC GAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACAT ACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGA GCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGA AGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAA CTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGA CAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGC GACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCG CAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAG ACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGA TGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGA ACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAA GACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATT

SEQ ID NO	序列
	CAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGA AAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCA CAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGA AGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCAC AGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCT GTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGA ATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATAC CACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCC TGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAA GACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGA TGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATC CTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACA GCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACG AACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGG TCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGC AAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCG AAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGC TGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAaAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGA

SEQ ID NO	序列
	ACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAG GACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAA CGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAA GCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACT GGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGC ACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGT CAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAG GTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAG CACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGA CGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTC TACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGA GACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCG CAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGA CAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAA AGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCT GGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGG GAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGG ATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAA

SEQ ID NO	序列
	AACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACT GCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCG GAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCG AACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAG CGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTC ACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGA GATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTA CGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGA GAAAGGTCTAG
508	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCA CCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACAGACACAGCA TCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCAGACT GAAGAGAACCGCCAGAAGAAGATACACCAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAGAT CTTCAGCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAGGAGAGCTTCCTG GTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGAGACACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGTGGCC TACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGG CCGACCTGAGACTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCAGAGGCCACTTCCTGATC GAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCT

SEQ ID NO	序列
	ACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAG CGCCAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAA GAACGGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAAC TTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGAC AACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCG ACGCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGC CAGCATGATCAAGAGATACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGAGA CAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGCT ACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGAT GGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACAGAGAGGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAA CCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGAGAAG ACAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACAGAGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTC AGAATCCCCTACTACGTGGGCCCCCTGGCCAGAGGCAACAGCAGATTCGCCTGGATGACCAGAA AGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCC AGAGCTTCATCGAGAGAATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAA GCACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACC GAGGGCATGAGAAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGT TCAAGACCAACAGAAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGT

SEQ ID NO	序列
	GCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACAGATTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCA CGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTG GAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACAGAGAGATGATCGAGGAGAGACTGAAGA CCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACCGGCTG GGGCAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGCATCAGAGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCT GGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGC CTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCACGAG CACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGG TGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCAGACACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCAG AGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCAGAGAGAGAATGAAGAGAATCGAGG AGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGC AGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCAGAGACATGTACGTGGACCAGGAGCT GGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGAC GACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCAGAAGCGACAAGAACAGAGGCAAGAGCGACAACGT GCCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCCAAGCT GATCACCCAGAGAAAGTTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGAGAGGCGGCCTGAGCGAGCTGGA CAAGGCCGGCTTCATCAAGAGACAGCTGGTGGAGACCAGACAGATCACCAAGCACGTGGCCCA GATCCTGGACAGCAGAATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCAGAGAGGTGAA

SEQ ID NO	序列
	GGTGATCACCCTGAAGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTG AGAGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCC TGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGT GAGAAAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTAC AGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAGATCAGAAAGAGAC CCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCAGAGACTTCGCCA CCGTGAGAAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCG GCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCCAGAAAGA AGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGT GGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCA TCACCATCATGGAGAGAAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTA CAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAAC GGCAGAAAGAGAATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCC AGCAAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGG ACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCA GATCAGCGAGTTCAGCAAGAGAGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGAGCGCC TACAACAAGCACAGAGACAAGCCCATCAGAGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCC TGACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACAGAAAGAGATA

SEQ ID NO	序列
	CACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTACGAG ACCAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGAGAAAG GTGTGA
509	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCG GATCCGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTG GGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGA CAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCAGACTGAAGAGAACCGCCAGAAGAAGATACACCAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTAC CTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAGG AGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGAGACACCCCATCTTCGGCAACATCGTGG ACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTGGACAG CACCGACAAGGCCGACCTGAGACTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCAGAGGC CACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGC TGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAA GGCCATCCTGAGCGCCAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCC GGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACT TCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTACGACG ACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAA

SEQ ID NO	序列
	GAACCTGAGCGACGCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTGAACACCGAGATCACCAAGGCC CCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGAGATACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGG CCCTGGTGAGACAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGG CTACGCCGGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCC TGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACAGAGAGGACCTGCTGAGAA AGCAGAGAACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCAT CCTGAGAAGACAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACAGAGAGAAGATCGAGAAGATC CTGACCTTCAGAATCCCCTACTACGTGGGCCCCCTGGCCAGAGGCAACAGCAGATTCGCCTGGAT GACCAGAAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGC CAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGAGAATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTG CTGCCCAAGCACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGT ACGTGACCGAGGGCATGAGAAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGG ACCTGCTGTTCAAGACCAACAGAAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGA AGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACAGATTCAACGCCAGCCTGGG CACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAG GACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACAGAGAGATGATCGAGGAGA GACTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATA CACCGGCTGGGGCAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGCATCAGAGACAAGCAGAGCGGCAA

SEQ ID NO	序列
	GACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCAC GACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGC CTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCG TGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCAGACACAAGCCCGAGAACATCGTGATCG AGATGGCCAGAGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCAGAGAGAGAATGAAG AGAATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAAC ACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCAGAGACATGTACGTGG ACCAGGAGCTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTT CCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCAGAAGCGACAAGAACAGAGGCAAGA GCGACAACGTGCCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGA ACGCCAAGCTGATCACCCAGAGAAAGTTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGAGAGGCGGCCTGA GCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGAGACAGCTGGTGGAGACCAGACAGATCACCAAGC ACGTGGCCCAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCAG AGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTC TACAAGGTGAGAGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGG GCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGT GTACGACGTGAGAAAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTA CTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAGATCA

SEQ ID NO	序列
	GAAAGAGACCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCAGAG ACTTCGCCACCGTGAGAAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGT GCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGC CAGAAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAG CGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGC TGCTGGGCATCACCATCATGGAGAGAAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGC CAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAG CTGGAGAACGGCAGAAAGAGAATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTG GCCCTGCCCAGCAAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCA GCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGA TCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGAGAGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGT GCTGAGCGCCTACAACAAGCACAGAGACAAGCCCATCAGAGAGCAGGCCGAGAACATCATCCAC CTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACAG AAAGAGATACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCGGC CTGTACGAGACCAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAG AAGAGAAAGGTGTGACTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAA GAAAATGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTC TAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAA

SEQ ID NO	序列
	AGAACCTCGAG
510	ATGGACAAGAAGTACTCTATCGGTTTGGACATCGGTACCAACTCTGTCGGTTGGGCCGTCATCAC CGACGAATACAAGGTCCCATCTAAGAAGTTCAAGGTCTTGGGTAACACCGACAGACACTCTATCA AGAAGAACTTGATCGGTGCCTTGTTGTTCGACTCTGGTGAAACCGCCGAAGCCACCAGATTGAA GAGAACCGCCAGAAGAAGATACACCAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACTTGCAAGAAATCTTC TCTAACGAAATGGCCAAGGTCGACGACTCTTTCTTCCACAGATTGGAAGAATCTTTCTTGGTCGA AGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCAATCTTCGGTAACATCGTCGACGAAGTCGCCTACCAC GAAAAGTACCCAACCATCTACCACTTGAGAAAGAAGTTGGTCGACTCTACCGACAAGGCCGACT TGAGATTGATCTACTTGGCCTTGGCCCACATGATCAAGTTCAGAGGTCACTTCTTGATCGAAGGTG ACTTGAACCCAGACAACTCTGACGTCGACAAGTTGTTCATCCAATTGGTCCAAACCTACAACCAA TTGTTCGAAGAAAACCCAATCAACGCCTCTGGTGTCGACGCCAAGGCCATCTTGTCTGCCAGATT GTCTAAGAGCAGAAGATTGGAAAACTTGATCGCCCAATTGCCAGGTGAAAAGAAGAACGGTTTG TTCGGTAACTTGATCGCCTTGTCTTTGGGTTTGACCCCAAACTTCAAGTCTAACTTCGACTTGGCC GAAGACGCCAAGTTGCAATTGTCTAAGGACACCTACGACGACGACTTGGACAACTTGTTGGCCC AAATCGGTGACCAATACGCCGACTTGTTCTTGGCCGCCAAGAACTTGTCTGACGCCATCTTGTTG TCTGACATCTTGAGAGTCAACACCGAAATCACCAAGGCCCCATTGTCTGCCTCTATGATCAAGAG ATACGACGAACACCACCAAGACTTGACCTTGTTGAAGGCCTTGGTCAGACAACAATTGCCAGAA AAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAATCTAAGAACGGTTACGCCGGTTACATCGACGGTGGTGC

SEQ ID NO	序列
	CTCTCAAGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCAATCTTGGAAAAGATGGACGGTACCGAAGAAT TGTTGGTCAAGTTGAACAGAGAAGACTTGTTGAGAAAGCAAAGAACCTTCGACAACGGTTCTAT CCCACACCAAATCCACTTGGGTGAATTGCACGCCATCTTGAGAAGACAAGAAGACTTCTACCCAT TCTTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCTTGACCTTCAGAATCCCATACTACGTCGGT CCATTGGCCAGAGGTAACAGCAGATTCGCCTGGATGACCAGAAAGTCTGAAGAAACCATCACCC CATGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGTGCCTCTGCCCAATCTTTCATCGAAAGAATGACC AACTTCGACAAGAACTTGCCAAACGAAAAGGTCTTGCCAAAGCACTCTTTGTTGTACGAATACTT CACCGTCTACAACGAATTGACCAAGGTCAAGTACGTCACCGAAGGTATGAGAAAGCCAGCCTTC TTGTCTGGTGAACAAAAGAAGGCCATCGTCGACTTGTTGTTCAAGACCAACAGAAAGGTCACCG TCAAGCAATTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACTCTGTCGAAATCTCTGGT GTCGAAGACAGATTCAACGCCTCTTTGGGTACCTACCACGACTTGTTGAAGATCATCAAGGACAA GGACTTCTTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCTTGGAAGACATCGTCTTGACCTTGACCTTG TTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGATTGAAGACCTACGCCCACTTGTTCGACGACAAGG TCATGAAGCAATTGAAGAGAAGAAGATACACCGGTTGGGGTAGATTGAGCAGAAAGTTGATCAA CGGTATCAGAGACAAGCAATCTGGTAAGACCATCTTGGACTTCTTGAAGTCTGACGGTTTCGCCA ACAGAAACTTCATGCAATTGATCCACGACGACTCTTTGACCTTCAAGGAAGACATCCAAAAGGCC CAAGTCTCTGGTCAAGGTGACTCTTTGCACGAACACATCGCCAACTTGGCCGGTTCTCCAGCCAT CAAGAAGGGTATCTTGCAAACCGTCAAGGTCGTCGACGAATTGGTCAAGGTCATGGGTAGACAC

SEQ ID NO	序列
	AAGCCAGAAAACATCGTCATCGAAATGGCCAGAGAAAACCAAACCACCCAAAAGGGTCAAAAG AACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGTATCAAGGAATTGGGTTCTCAAATCTTGA AGGAACACCCAGTCGAAAACACCCAATTGCAAAACGAAAAGTTGTACTTGTACTACTTGCAAAA CGGTAGAGACATGTACGTCGACCAAGAATTGGACATCAACAGATTGTCTGACTACGACGTCGACC ACATCGTCCCACAATCTTTCTTGAAGGACGACTCTATCGACAACAAGGTCTTGACCAGATCTGAC AAGAACAGAGGTAAGTCTGACAACGTCCCATCTGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACT GGAGACAATTGTTGAACGCCAAGTTGATCACCCAAAGAAAGTTCGACAACTTGACCAAGGCCGA AAGAGGTGGTTTGTCTGAATTGGACAAGGCCGGTTTCATCAAGAGACAATTGGTCGAAACCAGA CAAATCACCAAGCACGTCGCCCAAATCTTGGACAGCAGAATGAACACCAAGTACGACGAAAACG ACAAGTTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACCTTGAAGTCTAAGTTGGTCTCTGACTTCAGAAAG GACTTCCAATTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACTTGAA CGCCGTCGTCGGTACCGCCTTGATCAAGAAGTACCCAAAGTTGGAATCTGAATTCGTCTACGGTG ACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCCAAGTCTGAACAAGAAATCGGTAAGGCCAC CGCCAAGTACTTCTTCTACTCTAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAAATCACCTTGGCCAACGG TGAAATCAGAAAGAGACCATTGATCGAAACCAACGGTGAAACCGGTGAAATCGTCTGGGACAAG GGTAGAGACTTCGCCACCGTCAGAAAGGTCTTGTCTATGCCACAAGTCAACATCGTCAAGAAGA CCGAAGTCCAAACCGGTGGTTTCTCTAAGGAATCTATCTTGCCAAAGAGAAACTCTGACAAGTTG ATCGCCAGAAAGAAGGACTGGGACCCAAAGAAGTACGGTGGTTTCGACTCTCCAACCGTCGCCT

SEQ ID NO	序列
	ACTCTGTCTTGGTCGTCGCCAAGGTCGAAAAGGGTAAGTCTAAGAAGTTGAAGTCTGTCAAGGA ATTGTTGGGTATCACCATCATGGAAAGATCTTCTTTCGAAAAGAACCCAATCGACTTCTTGGAAGC CAAGGGTTACAAGGAAGTCAAGAAGGACTTGATCATCAAGTTGCCAAAGTACTCTTTGTTCGAAT TGGAAAACGGTAGAAAGAGAATGTTGGCCTCTGCCGGTGAATTGCAAAAGGGTAACGAATTGGC CTTGCCATCTAAGTACGTCAACTTCTTGTACTTGGCCTCTCACTACGAAAAGTTGAAGGGTTCTCC AGAAGACAACGAACAAAAGCAATTGTTCGTCGAACAACACAAGCACTACTTGGACGAAATCATC GAACAAATCTCTGAATTCTCTAAGAGAGTCATCTTGGCCGACGCCAACTTGGACAAGGTCTTGTC TGCCTACAACAAGCACAGAGACAAGCCAATCAGAGAACAAGCCGAAAACATCATCCACTTGTTC ACCTTGACCAACTTGGGTGCCCCAGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACAGAAAGA GATACACCTCTACCAAGGAAGTCTTGGACGCCACCTTGATCCACCAATCTATCACCGGTTTGTACG AAACCAGAATCGACTTGTCTCAATTGGGTGGTGACGGTGGTGGTTCTCCAAAGAAGAAGAGAAA GGTCTAA
511	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCAC CGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATC AAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCTGA AGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTT CTCCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTG GAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGTGGCCTACC

SEQ ID NO	序列
	ACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGA CCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGG GCGACCTGAACCCCGACAACTCCGACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAA CCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCC CGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAAC GGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGA CCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCTG CTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCAT CCTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGA TCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCT GCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGCTACATCGAC GGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCA CCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACA ACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGA CTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCT ACTACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGA GACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATC GAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCACTCCCTGC

SEQ ID NO	序列
	TGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCG GAAGCCCGCCTTCCTGTCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAAC CGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGACTCCG TGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAA GATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTG CTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACC TGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGTC CCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAG TCCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGA GGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTG GCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGA AGGTGATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCA CCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGC TGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTGTA CCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTG TCCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAA GGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCCTCCGAGGAGGTGGT GAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTC

SEQ ID NO	序列
	GACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAG CGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGA ACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCA AGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCA CCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAG CTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGT CCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTC AAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGC GAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCA TGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCAT CCTGCCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTA CGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGC AAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGGTCCTCCT TCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGAT CATCAAGCTGCCCAAGTACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCC GCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAGTACGTGAACTTCCTGTACC TGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGT GGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTG

SEQ ID NO	序列
512	ATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCA TCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGC CTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGAC GCCACCCTGATCCACCAGTCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGG CGGCGACGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA
	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCA CCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCA TCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCT GAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATC TTCAGCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGG TGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGTGGCCTA CCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCC GACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGA GGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTAC AACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCG CCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGA ACGGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTT CGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAA

SEQ ID NO	序列
	CCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGAC GCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCA GCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCA GCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGCTAC ATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGG ACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCT TCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCA GGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGG ATCCCCTACTACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGA GCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGA GCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCA CAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAG GGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCA AGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCT TCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGA CCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAG GACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCT ACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGG

SEQ ID NO	序列
	GCCGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGG ACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCT GACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCACGAGCA CATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTG GACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGG AGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAG GGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAG AACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGG ACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGA CAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCC CAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGAT CACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAA GGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGATC CTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTG ATCACCCTGAAGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGG AGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGAT CAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGG AAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCA

SEQ ID NO	序列
	ACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCT GATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGT GCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGG CTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGA CTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGTGGTG GCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACC ATCATGGAGCGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGG AGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCG GAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAA GTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAAC GAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCA GCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAA CAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACC AACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCA GCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCG GATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTG A
513	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCAC

SEQ ID NO	序列
	CGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATC AAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCTGA AGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTT CTCCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTG GAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGTGGCCTACC ACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGA CCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGG GCGACCTGAACCCCGACAACTCCGACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAA CCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCC CGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAAC GGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGA CCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCTG CTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCAT CCTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGA TCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCT GCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGCTACATCGAC GGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCA CCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACA

SEQ ID NO	序列
	ACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGA CTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCT ACTACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGA GACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATC GAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCACTCCCTGC TGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCG GAAGCCCGCCTTCCTGTCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAAC CGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGACTCCG TGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAA GATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTG CTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACC TGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGTC CCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAG TCCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGA GGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTG GCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGA AGGTGATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCA CCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGC

SEQ ID NO	序列
	TGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTGTA CCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTG TCCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAA GGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCCTCCGAGGAGGTGGT GAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTC GACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAG CGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGA ACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCA AGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCA CCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAG CTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGT CCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTC AAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGC GAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCA TGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCAT CCTGCCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTA CGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGC AAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGGTCCTCCT

SEQ ID NO	序列
	TCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGAT CATCAAGCTGCCCAAGTACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCC GCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAGTACGTGAACTTCCTGTACC TGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGT GGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTG ATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCA TCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGC CTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGAC GCCACCCTGATCCACCAGTCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGG CGGCGACGGCTCCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACGGCTCCCCCAAGAAGAAGCG GAAGGTGGACTCCGGCTGA
514	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCA CCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCA TCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCT GAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATC TTCAGCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGG TGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGTGGCCTA CCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCC

SEQ ID NO	序列
	GACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGA GGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTAC AACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCG CCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGA ACGGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTT CGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAA CCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGAC GCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCA GCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCA GCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGCTAC ATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGG ACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCT TCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCA GGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGG ATCCCCTACTACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGA GCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGA GCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCA CAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAG

SEQ ID NO	序列
	GGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCA AGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCT TCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGA CCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAG GACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCT ACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGG GCCGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGG ACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCT GACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCACGAGCA CATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTG GACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGG AGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAG GGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAG AACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGG ACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGA CAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCC CAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGAT CACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAA

SEQ ID NO	序列
	GGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGATC CTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTG ATCACCCTGAAGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGG AGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGAT CAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGG AAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCA ACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCT GATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGT GCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGG CTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGA CTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGTGGTG GCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACC ATCATGGAGCGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGG AGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCG GAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAA GTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAAC GAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCA GCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAA

SEQ ID NO	序列
	CAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACC AACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCA GCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCG GATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCAGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGA CGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACAGCGGCTGA
515	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCA CCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCA TCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCT GAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATC TTCAGCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGG TGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGTGGCCTA CCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCC GACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGA GGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTAC AACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCG CCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGA ACGGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTT CGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAA

SEQ ID NO	序列
	CCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGAC GCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCA GCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCA GCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGCTAC ATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGG ACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCT TCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCA GGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGG ATCCCCTACTACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGA GCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGA GCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCA CAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAG GGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCA AGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCT TCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGA CCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAG GACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCT ACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGG

SEQ ID NO	序列
	GCCGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGG ACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCT GACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCACGAGCA CATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTG GACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGG AGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAG GGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAG AACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGG ACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGA CAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCC CAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGAT CACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAA GGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGATC CTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTG ATCACCCTGAAGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGG AGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGAT CAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGG AAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCA

SEQ ID NO	序列
	ACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCT GATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGT GCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGG CTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGA CTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGTGGTG GCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACC ATCATGGAGCGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGG AGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCG GAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAA GTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAAC GAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCA GCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAA CAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACC AACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCA GCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCG GATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACTGA

【0212】 脂質奈米顆粒(LNP)調配物

【0213】 一般而言，將脂質奈米顆粒組分以不同莫耳比率溶於100%乙醇中。將RNA負荷(例如Cas9 mRNA及sgRNA)溶於25 mM檸檬酸鹽/100 mM NaCl (pH 5.0)中，從而得到大約0.45 mg/mL之RNA負荷濃度。實例2-4中所使用之LNP以50:38:9:3莫耳比率分別含有可離子化脂質((9Z,12Z)-3-((4,4-雙(辛基氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基十八-9,12-二烯酸酯((9Z,12Z)-3-((4,4-bis(octyloxy)butanoyl)oxy)-2-((((3-(diethylamino)propoxy)carbonyl)oxy)methyl)propyl octadeca-9,12-dienoate，亦稱為3-((4,4-bis(octyloxy)butanoyl)oxy)-2-((((3-(diethylamino)propoxy)carbonyl)oxy)methyl)propyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate))、膽固醇、DSPC及PEG2k-DMG。使用約6之脂質胺對RNA磷酸酯(N:P)莫耳比率及1:1之gRNA對mRNA重量比率來調配LNP。

【0214】 使用交叉流技術藉由撞擊射流混合於乙醇中之脂質與兩體積RNA溶液及一體積水來製備LNP。經由混合十字架來混合於乙醇中之脂質與兩體積RNA溶液。經由直插式三通混合第四水流與十字架出口流(*參見*WO2016010840圖2)。將LNP在室溫下保持1小時，並使用水(大約1:1 v/v)進一步稀釋。使用切向流過濾在平板柱(Sartorius, 100kD MWCO)上濃縮經稀釋LNP且然後使用PD-10去鹽管柱(GE)緩衝液交換至50 mM Tris、45 mM NaCl、5% (w/v)蔗糖(pH 7.5) (TSS)。然後使用0.2 μm無菌過濾器過濾所得混合物。將最終LNP儲存於4℃或-80℃下直至進一步使用。

【0215】 人類LDHA嚮導設計及具有食蟹猴同源性嚮導設計之人類

LDHA

【0216】 在電腦中使用人類參考基因體(例如hg38)及使用者定義之所關注基因體區域(例如編碼*LDHA*蛋白之外顯子)來實施初始嚮導選擇以鑑別所關注區域中之PAM。對於每一所鑑別PAM而言，實施分析且報告統計學。進一步選擇gRNA分子且基於業內已知之諸多準則(例如GC含量、預測在靶活性及潛在脫靶活性)進行排序。

【0217】 針對人類*LDHA* (ENSG00000134333)設計總共84個靶向蛋白質外顯子編碼區之嚮導RNA。嚮導及相應基因體坐標提供於上文中(表1)。40個嚮導RNA與食蟹猴*LDHA*具有100%同源性。

【0218】 針對新食蟹猴LDHA轉錄物設計其他嚮導。自來自雌性毛裡求斯源食蟹猴(NCBI SRA ID: SRR1758956；Peng等人(2015), Nucleic Acids Research，第43卷，第D1期，第D737-D742頁)之肝試樣之公開轉錄組測序獲得原始數據。使用Trinity (v2.8.4；Grabherr等人(2011), Nature Biotechnology, 29: 644-652)及SPAdes (v3.13.0；Bankevich等人(2012), Journal of Computational Biology, 19:5)實施重新轉錄組組裝。兩種方法皆能夠組裝*LDHA*轉錄物，該等轉錄物係藉由使用BLAST比較其序列與LDHA蛋白(UniProt ID: Q9BE24)來進行鑑別(Altschul等人(1990), Journal of Molecular Biology, 215:3, 403-410)。Cas9 (mRNA/蛋白質)及嚮導RNA之活體外遞送

【0219】 將原代人類肝肝細胞(PHH) (Gibco，批號：Hu8298或Hu8296)及原代食蟹猴肝肝細胞(PCH) (Gibco，批號：Cy367；或In Vitro ADMET Laboratories, Inc.，批號：10281011)解凍並再懸浮於含有補充物之肝細胞解凍培養基(Gibco，目錄號：CM7500)中，隨後離心。棄除上

清液並將粒化細胞再懸浮於肝細胞平鋪培養基加上補充包(Invitrogen，目錄號：A1217601及CM3000)中。對細胞進行計數並以33,000個細胞/孔(對於PHH)及50,000個細胞/孔(對於PCH)之密度平鋪於經Bio-coat膠原I塗覆之96孔板(ThermoFisher，目錄號：877272)上。使經平鋪細胞在37℃及5% CO_2氣氛下於組織培養培育器中沉降並黏附5小時。在培育之後，檢查細胞中之單層形成且使用肝細胞培養基(Takara，目錄號：Y20020；及/或Invitrogen，目錄號：A1217601及CM4000)洗滌一次。

【0220】 對於利用dgRNA之研究而言，藉由以下方式來預退火個別crRNA及trRNA：混合等量試劑並在95℃下培育 2 min，且冷卻至室溫。將由預退火crRNA及trRNA組成之雙嚮導(dgRNA)與Spy Cas9蛋白一起培育以形成核糖核蛋白(RNP)複合物。使用Lipofectamine RNAiMAX (ThermoFisher，目錄號：13778150)根據製造商方案來轉染細胞。使用含有Spy Cas9 (10nM)、個別嚮導(10 nM)、示蹤RNA (10 nM)、Lipofectamine RNAiMAX (1.0 μL/孔)及OptiMem之RNP轉染細胞。

【0221】 對於利用sgRNA之研究而言，將嚮導與Spy Cas9蛋白一起培育以形成核糖核蛋白(RNP)複合物。在利用RNP轉染之研究中，使用Lipofectamine RNAiMAX (ThermoFisher，目錄號：13778150)根據製造商方案來轉染細胞。使用含有Spy Cas9 (10nM)、sgRNA (10 nM)、Lipofectamine RNAiMAX (1.0 μL/孔)及OptiMem之RNP轉染細胞。在利用電穿孔之研究中，使用含有Spy Cas9 (2uM)及sgRNA (4uM)之RNP利用Lonza 4D-Nucleofector核心單元(目錄號：AAF-1002X)、96孔穿梭裝置(目錄號：AAM 10015)及P3原代細胞套組(目錄號：V4XP-3960)來電穿孔細胞。

【0222】 亦使用LNP來處理原代人類及食蟹猴肝細胞，如下文進一步所闡述。在使用LNP處理之前，將細胞在37℃、5% CO_2下培育48小時。將LNP在37℃下於含有3%食蟹猴血清之培養基中培育10分鐘並以如本文進一步所提供之量投與細胞中。

【0223】 Cas9 mRNA及gRNA之脂質轉染使用預混合脂質調配物，其中將脂質組分以50%脂質A、9% DSPC、38%膽固醇及3% PEG2k-DMG之莫耳比率重構於100%乙醇中。然後以約6.0之脂質胺對RNA磷酸酯(N:P)莫耳比率混合脂質混合物與RNA負荷(例如Cas9 mRNA及gRNA)。使用6%食蟹猴血清及1:1之gRNA對mRNA之重量比率來實施脂質轉染。

【0224】 基因體DNA分離

【0225】 在轉染後72或96小時收穫PHH及PCH轉染細胞。使用50 μL/孔BuccalAmp DNA提取溶液(Epicentre，目錄號：QE09050)根據製造商方案自96孔板之每一孔提取gDNA。對所有DNA試樣實施PCR及後續NGS分析，如本文所闡述。

【0226】 二代測序(「NGS」)及在靶裂解效率分析

【0227】 為定量測定基因體中之靶位置之編輯效率，利用深度測序來鑑別藉由基因編輯引入之插入及缺失之存在。將PCR引子設計於所關注基因(例如*LDHA*)內之靶位點附近，且擴增所關注之基因體區域。引子序列設計係該領域中之標準設計。

【0228】 根據製造商方案(Illumina)實施額外PCR以添加測序用化學物質。在Illumina MiSeq儀器上對擴增子進行測序。在消除具有低品質評分者之後，將讀數與參考基因體(例如hg38)進行比對。將含有讀數之所得

檔案映射至參考基因體(BAM檔案)，其中選擇與所關注靶區域重疊之讀數且計算野生型讀取數與含有插入或缺失(「插入缺失」)之讀取數。

【0229】 編輯百分比(例如「編輯效率」或「編輯百分數」)定義為具有插入或缺失(「插入缺失」)之序列讀數之總數除以序列讀數(包含野生型)之總數。

【0230】 藉由西方印漬實施之乳酸脫氫酶A (LDHA)蛋白分析

【0231】 使用利用如實例3中進一步所闡述之來自表1之所選嚮導調配之LNP處理原發性人類肝細胞。將LNP在37℃下於含有3%食蟹猴血清之培養基(Takara，目錄號：Y20020)中培育10分鐘。在培育後，將LNP添加至人類肝細胞中。在轉染後21天，去除培養基且使用50 μL/孔RIPA緩衝液(Boston Bio Products，目錄號：BP-115)加上新添加之蛋白酶抑制劑混合物(由全蛋白酶抑制劑混合劑(Sigma，目錄號：11697498001)、1 mM DTT及250 U/ml Benzonase (EMD Millipore，目錄號：71206-3)組成)裂解細胞。將細胞在冰上保持30分鐘，然後添加NaCl (1 M最終濃度)。將細胞溶解物充分混合並在冰上保留30分鐘。將全細胞提取物(「WCE」)轉移至PCR板中並離心成糰粒碎屑。使用Bradford分析 (Bio-Rad，目錄號：500-0001)來評價溶解物之蛋白質含量。根據製造商方案完成Bradford分析程序。將提取物在使用之前儲存於-20℃下。

【0232】 使用利用如實例4中進一步所闡述之所選嚮導調配之LNP治療AGT缺陷型小鼠。在治療後自小鼠收穫肝且使用60 mg部分進行蛋白質提取。將試樣置於珠粒管(MP Biomedical，目錄號：6925-500)中並使用600 μL/試樣之RIPA緩衝液(Boston Bio Products，目錄號：BP-115)加上新添加之蛋白酶抑制劑混合物(由全蛋白酶抑制劑混合劑(Sigma，目錄

號：116974500)組成)裂解，且在5.0 m/sec下均質化。然後將試樣在14,000 RPM及4℃下離心10 min.且將液體轉移至新管中。在14,000 RPM下實施最終離心10 min.且使用如上文所闡述之Bradford分析量化試樣。

【0233】實施西方印漬以評價LDHA蛋白含量。混合裂解物與Laemmli緩衝液並在95℃下變性10分鐘。使用NuPage系統在10% Bis-Tris凝膠(Thermo Fisher Scientific，目錄號：NP0302BOX)上根據製造商方案來運行印漬，隨後濕轉移於0.45 μm硝基纖維素膜(Bio-Rad，目錄號：1620115)上。然後，使用水充分沖洗轉移膜並使用Ponceau S溶液(Boston Bio Products，目錄號：ST-180)染色以證實完全且均勻地轉移。在室溫下於實驗室振盪器上使用5%奶粉於TBS中阻斷印漬30分鐘。使用TBST沖洗印漬物並使用兔α-LDHA多株抗體(Sigma，目錄號：SAB2108638，用於細胞溶解物；或Genetex，目錄號：GTX101416，用於小鼠肝溶解物)以1:1000在TBST中進行探測。對於使用活體外細胞溶解物之印漬而言，以1:1000於TBST中使用β-肌動蛋白作為加載對照(Novus，目錄號：NB600-501)並同時與LDHA一級抗體一起培育。對使用活體內小鼠肝提取物之印漬而言，以1:1000在TBST中使用GAPDH作為加載對照(Abcam, ab8245)並同時與LDHA一級抗體一起培育。將印漬物密封於袋中並在4℃下於實驗室振盪器上保持過夜。在培育之後，將印漬物在TBST中沖洗3次(各5分鐘)且使用小鼠及兔二級抗體(Thermo Fisher Scientific，目錄號：PI35518及PISA535571)各自以1:12,500在室溫下於TBST中探測30分鐘。在培育之後，將印漬物在TBST中沖洗3次(各5分鐘)且使用PBS沖洗2次。目測印漬物並使用Licor Odyssey系統分析。

【0234】藉由免疫組織化學染色實施之乳酸脫氫酶A (LDHA)蛋白

分析

【0235】 對於小鼠肝之目測LDHA蛋白分析而言，在Lecia Bond Rxm上實施標準免疫組織化學染色。對於抗原修復(HIER)而言，將載玻片在94℃下於 pH 9 EDTA基緩衝液中加熱25分鐘，隨後以1:500實施抗體培育30分鐘(Abcam目錄編號：Ab52488)。使用與HRP偶聯之二級聚合物檢測抗體結合，隨後使用二胺基聯苯胺實施顯色可視化。

【0236】 小鼠肌肉及肝之LDH活性之量測

【0237】 使用生物化學方法(例如Wood KD等人，Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2019 Sep 1;1865(9):2203-2209；PMC6613992)來分析乳酸脫氫酶活性。為量測乳酸脫氫酶活性，使用探針超音波處理將組織在冰冷裂解緩衝液(25mM HEPES, pH 7.3, 0.1% Triton-X-100)中均質化以得到10% wt/vol溶解物。藉由340nm下吸光度之增加及在乳酸鹽存在下NAD至NADH之還原來量測LDH活性。使用20mM乳酸鹽、100mM Tris-HCL (pH 9.0)、2mM NAD+、0.01%肝溶解物量測LDG之乳酸鹽至丙酮酸鹽活性。使用Cooomassie Plus蛋白質分析套組(Pierce, Rockford, IL)(使用牛血清白蛋白(BSA)作為標準物)來測定組織溶解物中之蛋白質濃度。

【0238】 小鼠試樣之草酸鹽、肌酸酐、丙酮酸鹽及乳酸鹽之量測

【0239】 對於草酸鹽測定而言，在儲存於-80℃下之前，使用HCl將尿收集部分酸化至pH介於1與2之間以防止任何可發生於冷儲存時之可能草酸鹽結晶及/或與鹼化有關之草酸生成。將剩餘未酸化尿冷凍於-80℃下以用於量測肌酸酐。經由使用10,000標稱分子量限值之Nano-sep離心過濾器(VWR International, Batavia, IL)過濾血漿製劑以去除大分子，然後實

施離子層析以及質譜或ICMS (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA)。使用10 mM HCl洗滌離心過濾器，然後過濾試樣以去除捕集於過濾裝置中之任何污染性痕量有機酸。使用10% (wt/vol)三氯乙酸(TCA)提取肝組織以用於有機酸分析。在去除TCA後藉由以下方式藉由ICMS量測該等有機酸：使用等體積之1,1,2-三氯三氟乙烷(Freon)-三辛基胺(3:1, vol/vol；Aldrich, Milwaukee, WI)劇烈渦旋，在4℃下離心以促進相分離，且收集上部水層用於分析。在化學分析儀上量測尿肌酸酐，且藉由ICMS量測尿草酸鹽，如先前所闡述。

【0240】 使用選定離子監測(SIM)在下列質/荷比及錐電壓下量化乳酸鹽(SIM 89.0, 35 V)及13C3-乳酸鹽(SIM 92.0, 35 V)。藉由IC/MS使用AS11-HC陰離子交換管柱(4 μm, 2 × 150 mm，在30℃之受控溫度下)及Dionex™ ERS™ 500陰離子電解再生性抑制劑量測丙酮酸鹽。使用0.5 mM至80 mM KOH之梯度(60 min，流速為0.38 ml/min)來分離試樣陰離子。以ESI負模式使用1.5 V針電壓、500℃源溫度來操作質譜儀(MSQ-PLUS)，且在進入MSQ之前使用0死體積混合三通以0.38 ml/min混合管柱洗脫劑與50%乙腈。使用選定離子監測(SIM)在下列質/荷比及錐電壓下測得丙酮酸鹽(SIM 87.0, 30 V)。

【0241】 實例2 -篩選及嚮導量化

【0242】 原代肝細胞中之LDHA嚮導之交叉篩選

【0243】 將靶向人類*LDHA*之嚮導及與食蟹猴*LDHA*同源者轉染至原代人類(經由RNP轉染)及食蟹猴肝細胞(經由RNP電穿孔)中，如實例1中所闡述。在每一細胞類型中測定包括每一嚮導序列之sgRNA之編輯百分比。表1中之嚮導序列在兩種細胞系中之篩選數據列示於下文中(表4-5)。

【0244】 表4展示一式兩份試樣中以RNP形式轉染至原代人類肝細胞中之*LDHA*之編輯%、插入(Ins) %及缺失(Del) %之平均值及標準偏差。N=2。

表4：經由RNP轉染遞送至原代人類肝細胞中之sgRNA之*LDHA*編輯數據

嚮導編號	平均編輯%	編輯%標準偏差	平均Ins %	Ins %標準偏差	平均Del %	Del %標準偏差
G009440	9.50	4.10	2.45	0.92	7.05	3.18
G012089	38.15	3.18	12.10	0.14	26.00	3.25
G012090	11.85	3.89	1.45	0.49	10.60	3.39
G012092	22.75	2.76	4.00	0.14	19.65	2.62
G012093	34.60	0.28	8.95	0.21	25.60	0.42
G012094	20.50	0.42	14.30	0.85	6.35	1.34
G012095	28.45	2.33	3.50	0.71	25.00	2.97
G012096	32.30	0.42	0.70	0.00	31.75	0.49
G012097	24.65	1.34	3.95	1.06	20.75	2.33
G012098	6.25	1.77	2.10	0.57	4.30	1.13
G012099	12.20	1.84	5.10	0.85	7.10	0.99
G012100	9.40	1.13	6.95	0.78	2.45	0.35
G012101	3.60	0.85	1.45	0.35	2.15	0.49
G012103	34.90	3.11	2.30	0.00	32.70	3.25
G012104	5.85	2.33	0.25	0.21	5.60	2.12
G012105	23.45	0.78	8.45	0.49	15.15	1.34
G012106	5.80	1.56	1.60	0.14	4.20	1.41
G012107	2.85	0.21	0.75	0.21	2.20	0.28
G012108	14.50	0.57	0.80	0.14	13.75	0.64
G012109	12.40	0.71	0.65	0.07	11.80	0.71
G012110	12.00	1.98	3.85	0.49	8.35	1.48
G012111	27.20	0.28	16.40	0.14	10.85	0.07

表4：經由RNP轉染遞送至原代人類肝細胞中之sgRNA之*LDHA*編輯數據						
嚮導編號	平均編輯%	編輯%標準偏差	平均Ins%	Ins %標準偏差	平均Del %	Del %標準偏差
G012112	3.85	1.34	0.95	0.35	2.95	1.06
G012113	9.45	2.62	2.05	1.06	7.40	1.56
G012114	7.05	0.78	1.95	0.07	5.10	0.85
G012115	31.10	7.64	12.40	3.25	18.90	4.24
G012116	12.55	1.34	4.85	0.07	7.80	1.41
G012117	10.40	1.41	3.40	0.00	7.40	1.56
G012118	21.95	3.32	2.35	0.35	19.60	2.97
G012119	15.50	3.68	0.50	0.14	14.95	3.46
G012120	22.05	4.88	1.70	0.71	20.45	4.31
G012121	10.90	0.28	3.45	0.21	7.65	0.64
G012122	2.60	0.28	0.40	0.00	2.20	0.28
G012123	6.80	0.85	1.90	0.14	4.90	0.71
G012124	10.90	2.40	1.30	0.14	9.70	2.26
G012125	6.10	0.42	0.85	0.21	5.35	0.64
G012126	1.85	0.21	0.50	0.00	1.35	0.21
G012127	10.05	1.20	0.85	0.21	9.30	1.41
G012128	6.20	0.14	1.05	0.21	5.20	0.28
G012129	6.40	0.71	0.45	0.07	6.00	0.57
G012130	1.00	0.14	0.55	0.07	0.55	0.07
G012131	3.15	0.21	0.70	0.28	2.55	0.35
G012132	17.90	1.84	11.50	2.12	6.45	0.21
G012133	23.45	0.64	6.70	0.14	16.75	0.49
G012134	4.45	0.07	1.70	0.00	2.85	0.07
G012135	16.80	0.71	4.30	0.42	12.60	0.42
G012136	38.65	0.92	0.90	0.00	37.80	0.99
G012137	1.10	0.28	0.30	0.14	0.80	0.14

表4：經由RNP轉染遞送至原代人類肝細胞中之sgRNA之*LDHA*編輯數據						
嚮導編號	平均編輯%	編輯%標準偏差	平均Ins%	Ins %標準偏差	平均Del %	Del %標準偏差
G012138	17.35	3.75	4.70	0.99	12.85	2.76
G012139	6.30	0.57	0.45	0.35	5.85	0.21
G012140	14.65	2.33	4.30	1.84	10.45	0.49
G012141	0.95	0.07	0.35	0.07	0.65	0.07
G012142	32.35	0.92	30.85	1.06	19.55	0.64
G012143	3.35	0.07	1.75	0.07	1.60	0.00
G012149	17.65	0.35	1.50	0.57	16.20	0.14
G012150	12.65	0.64	9.50	0.85	3.20	0.14
G012151	12.90	0.14	6.70	0.14	6.25	0.21
G012152	4.80	0.14	0.80	0.14	4.10	0.00
G012154	11.45	2.90	4.85	1.06	6.65	1.91
G012156	7.85	1.34	3.70	0.42	4.30	0.85
G012158	10.90	1.56	2.20	0.57	8.70	0.99
G012159	11.35	0.49	2.35	0.07	9.10	0.57
G012160	10.40	0.42	2.00	0.28	8.45	0.07
G012162	3.95	0.49	1.75	0.35	2.30	0.14
G012165	27.95	3.04	1.40	0.71	26.55	2.47
G012167	27.95	1.06	18.70	0.57	9.35	0.49
G012168	9.90	1.27	0.50	0.28	9.50	0.99
G012169	20.20	2.97	4.05	0.78	16.30	2.12
G012171	19.15	1.34	2.90	0.71	16.40	0.57
G012172	15.85	2.47	2.15	0.35	13.85	2.19
G012173	11.10	0.14	6.60	0.14	4.55	0.07

【0245】 表5展示使用RNP電穿孔至原代食蟹猴肝細胞中之所測試*LDHA* sgRNA之編輯%、插入(Ins) %及缺失(Del) %之平均值及標準偏

差。N=2。

表5：經由RNP電穿孔遞送至原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據						
嚮導編號	**平均編輯%**	**編輯%標準偏差**	**平均Ins %**	**Ins %標準偏差**	**平均Del %**	**Del %標準偏差**
G012090	11.40	8.34	0.20	0.14	11.30	8.20
G012143	4.75	0.92	2.25	0.07	2.60	0.85
G012145	4.10	1.70	0.15	0.07	3.95	1.63
G012146	9.60	2.69	3.50	1.70	6.20	1.13
G012147	0.20	0.00	0.00	0.00	0.15	0.07
G012148	36.30	1.70	12.80	0.28	23.90	1.56
G012149	31.00	3.82	1.30	0.00	29.65	3.75
G012150	30.35	19.16	18.60	14.00	11.95	5.16
G012151	65.05	4.45	36.60	2.26	28.50	2.12
G012152	19.50	0.14	0.55	0.21	19.05	0.21
G012153	0.90	0.42	0.05	0.07	0.85	0.35
G012154	47.50	0.99	28.60	3.68	19.00	2.55
G012155	65.55	3.32	2.25	0.21	63.65	3.18
G012156	17.60	9.05	3.05	0.92	14.55	8.27
G012157	42.80	6.36	7.70	0.28	35.10	6.65
G012158	31.95	17.47	4.35	3.04	27.70	14.57
G012159	44.70	1.41	3.60	0.28	41.10	1.13
G012160	34.70	1.70	7.55	0.78	27.20	2.40
G012161	25.75	6.58	5.75	3.18	20.20	3.39
G012162	14.50	3.82	6.55	0.35	8.10	3.54
G012163	28.30	4.53	0.40	0.00	28.00	4.53
G012164	57.85	2.33	3.65	0.35	54.20	2.69
G012165	42.75	14.07	1.30	0.14	41.45	13.93
G012166	57.55	5.30	39.70	3.11	17.90	2.12
G012167	47.95	12.94	23.50	6.65	24.70	6.08

表5：經由RNP電穿孔遞送至原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據						
嚮導編號	平均編輯%	編輯%標準偏差	平均Ins %	Ins %標準偏差	平均Del %	Del %標準偏差
G012168	21.80	N/A	0.10	N/A	21.80	N/A
G012169	58.25	5.73	2.50	0.57	55.85	5.30
G012170	17.55	4.60	5.40	0.42	12.15	4.17
G012171	49.25	9.83	6.75	3.04	42.55	6.86
G012172	19.10	3.68	1.45	0.35	17.65	3.32
G012173	21.35	8.27	7.75	3.18	13.65	5.16

【0246】表6展示使用脂轉染在30nM sgRNA濃度下所測試*LDHA* sgRNA在原代食蟹猴肝細胞中之多個染色體位置之編輯%之平均值及標準偏差。N=2。

表6：遞送至原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據						
嚮導編號	Chr12 平均編輯%	Chr12 編輯%標準偏差	Chr14 平均編輯%	Chr14 編輯%標準偏差	Chr17 平均編輯%	Chr17 編輯%標準偏差
G015538	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
G015539	0.0	0.0	19.4	3.5	0.0	0.0
G015540	0.0	0.0	34.6	0.5	0.0	0.0
G015541	59.3	6.7	0.0	0.0	59.3	5.4
G015542	0.0	0.0	0.0	0.0	31.7	1.1
G015543	0.0	0.0	27.0	1.6	0.0	0.0
G015544	0.0	0.0	7.6	0.8	0.0	0.0
G015545	0.0	0.0	9.3	1.7	0.0	0.0
G015546	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
G015547	0.0	0.0	58.6	4.2	0.0	0.0

表6：遞送至原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據						
嚮導編號	Chr12 平均編輯%	Chr12 編輯% 標準偏差	Chr14 平均編輯%	Chr14 編輯% 標準偏差	Chr17 平均編輯%	Chr17 編輯% 標準偏差
G015548	0.0	0.0	32.5	4.0	0.0	0.0
G015549	0.0	0.0	9.4	5.1	0.0	0.0
G015550	15.0	4.2	0.0	0.0	15.9	4.3
G015551	0.0	0.0	6.7	3.5	0.0	0.0
G015552	25.7	16.6	0.0	0.0	26.7	16.0
G015553	21.6	0.0	0.0	0.0	25.1	9.7
G015554	0.0	0.0	20.4	7.4	0.0	0.0
G015555	0.0	0.0	32.3	14.0	0.0	0.0
G015556	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
G015557	0.0	0.0	8.6	5.3	4.0	0.0
G015558	0.0	0.0	15.9	11.2	0.0	0.0
G015559	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
G015560	0.0	0.0	36.7	0.0	0.0	0.0
G015561	0.0	0.0	42.1	0.0	0.0	0.0
G015562	51.6	0.0	0.0	0.0	43.8	0.0
G015563	37.2	0.0	0.0	0.0	38.3	0.0
G015564	44.9	0.0	0.0	0.0	40.2	0.0
G015565	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
G015566	35.6	0.0	0.0	0.0	36.5	0.0
G015567	0.0	0.0	3.6	0.0	0.0	0.0
G015568	0.0	0.0	10.3	3.0	0.0	0.0
G015569	0.0	0.0	22.6	0.9	0.0	0.0
G015570	0.0	0.0	17.4	1.0	0.0	0.0
G015571	0.0	0.0	98.0	0.2	0.0	0.0

表6：遞送至原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據						
嚮導編號	Chr12 平均編輯%	Chr12 編輯% 標準偏差	Chr14 平均編輯%	Chr14 編輯% 標準偏差	Chr17 平均編輯%	Chr17 編輯% 標準偏差
G015572	0.0	0.0	14.7	0.7	0.0	0.0
G015573	0.0	0.0	7.6	2.0	0.0	0.0
G015574	0.0	0.0	15.8	3.8	0.0	0.0
G015575	0.0	0.0	0.0	0.0	27.0	4.2
G015576	0.0	0.0	0.0	0.0	16.5	2.5
G015577	0.0	0.0	0.0	0.0	27.8	5.4
G015578	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
G015579	41.4	1.0	0.0	0.0	42.2	1.9
G015580	17.4	0.0	0.0	0.0	24.2	1.6
G015581	6.2	0.5	0.0	0.0	6.3	0.1
G015582	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
G015583	0.0	0.0	27.8	2.2	0.0	0.0
G015584	0.0	0.0	6.5	0.0	0.0	0.0
G015585	0.0	0.0	4.3	1.3	0.0	0.0
G015586	0.0	0.0	20.5	0.8	15.0	1.1
G015587	0.0	0.0	40.6	3.2	0.0	0.0
G015588	0.0	0.0	21.2	1.2	0.0	0.0
G015589	0.0	0.0	22.4	0.8	0.0	0.0
G015590	0.0	0.0	29.3	4.3	0.0	0.0
G015591	0.0	0.0	38.8	2.3	0.0	0.0
G015592	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
G015593	0.0	0.0	9.8	1.3	0.0	0.0
G015594	0.0	0.0	41.4	6.4	0.0	0.0
G015595	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表6：遞送至原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據						
嚮導編號	Chr12 平均編輯%	Chr12 編輯% 標準偏差	Chr14 平均編輯%	Chr14 編輯% 標準偏差	Chr17 平均編輯%	Chr17 編輯% 標準偏差
G015596	0.0	0.0	5.1	2.7	0.0	0.0
G015597	0.0	0.0	12.1	2.2	0.0	0.0
G015598	0.0	0.0	25.6	3.5	0.0	0.0
G015599	0.0	0.0	25.6	1.8	0.0	0.0
G015600	35.9	4.7	0.0	0.0	38.4	7.6
G015601	23.6	0.6	0.0	0.0	24.1	1.1
G015602	0.0	0.0	37.6	1.7	0.0	0.0
G015603	0.0	0.0	17.7	0.3	0.0	0.0
G015604	53.5	7.2	0.0	0.0	72.6	2.5
G015605	12.3	2.8	0.0	0.0	13.5	1.2
G015606	30.5	0.8	0.0	0.0	27.3	1.6
G015607	10.9	2.9	0.0	0.0	11.5	0.5
G015608	0.0	0.0	0.0	0.0	20.3	1.5
G015609	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
G015610	0.0	0.0	29.5	0.3	0.0	0.0
G015611	0.0	0.0	14.8	1.0	0.0	0.0
G015612	0.00	0.00	2.00	0.00	22.90	0.00
G015613	0.00	0.00	32.90	0.85	33.90	2.55
G015614	0.00	0.00	0.00	0.00	12.25	0.64
G015615	0.00	0.00	0.00	0.00	30.05	1.91
G015616	0.00	0.00	0.00	0.00	5.25	0.21
G015617	0.00	0.00	0.00	0.00	36.15	0.64
G015618	0.00	0.00	0.00	0.00	8.75	0.92
G015619	2.45	0.35	0.00	0.00	3.85	0.49

表6：遞送至原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據						
嚮導編號	Chr12 平均編輯%	Chr12 編輯% 標準偏差	Chr14 平均編輯%	Chr14 編輯% 標準偏差	Chr17 平均編輯%	Chr17 編輯% 標準偏差
G015620	0.00	0.00	0.00	0.00	18.25	2.90
G015621	0.00	0.00	0.00	0.00	46.70	0.71
G015622	41.60	2.83	3.05	1.06	0.00	0.00
G015623	15.60	0.42	1.15	0.35	0.00	0.00
G015624	0.00	0.00	1.70	0.57	0.00	0.00
G015625	0.00	0.00	0.00	0.00	22.50	1.70
G015626	0.00	0.00	0.00	0.00	50.45	1.48
G015627	0.00	0.00	0.00	0.00	24.60	0.85
G015628	0.00	0.00	0.00	0.00	8.70	1.27
G015629	0.00	0.00	0.00	0.00	50.55	0.07
G015630	17.10	0.28	0.00	0.00	0.00	0.00

【0247】 基於原代人類及原代食蟹猴肝細胞編輯數據，進一步評估嚮導序列之子組。此子組提供於表7及8中，其中相應編輯數據係來自再現之原代肝細胞篩選。

表7：選擇用於進一步在PHH中分析之原代人類肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據	
嚮導編號	編輯% (來自上文表4)
G012089	38.15
G012093	34.60
G012095	28.45
G012096	32.30
G012103	34.90
G012111	27.20
G012115	31.10

G012120	22.05
G012133	23.45
G012136	38.65

表8：選擇用於進一步在PCH中分析之原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據	
嚮導編號	**編輯% (來自上文表5)**
G012151	65.05
G012155	65.55
G012157	42.8
G012159	44.7
G012162	14.5
G012164	57.85
G012165	42.75
G012166	57.55
G012167	47.95
G012169	58.25

【0248】 LDHA嚮導之脫靶分析

【0249】 使用生物化學方法(例如參見Cameron等人，*Nature Methods*. 6, 600-606；2017)來測定藉由靶向*LDHA*之Cas9裂解之潛在脫靶基因體位點。在此實驗中，使用經分離HEK293基因體DNA篩選10個靶向人類*LDHA*之經修飾sgRNA (及兩個具有已知脫靶特徵之對照嚮導)且潛在脫靶結果繪示於圖1中。該分析鑑別所測試sgRNA之潛在脫靶位點。

【0250】 用於驗證潛在脫靶位點之靶向測序

【0251】 在已知脫靶檢測分析(例如上文所使用之生物化學方法)中，通常有意地回收大量潛在脫靶位點，以「廣泛搜集(cast a wide net)」可在其他環境(例如所關注原代細胞)中驗證之潛在位點。舉例而言，生物化學方法通常過度代表潛在脫靶位點之數量，此乃因該分析利用

不含細胞環境之經純化高分子量基因體DNA且依賴於所用Cas9 RNP之劑量。因此，藉由該等方法鑑別之潛在脫靶位點可使用所鑑別潛在脫靶位點之靶向測序來進行驗證。

【0252】 在一種方式中，使用包括Cas9 mRNA及所關注sgRNA (例如具有用於評估之潛在脫靶位點之sgRNA)之LNP處理原代肝細胞。然後裂解原代肝細胞且使用側接於潛在脫靶位點之引子來生成用於NGS分析之擴增子。鑑別出某一程度之插入缺失可驗證潛在脫靶位點，而缺乏發現於潛在脫靶位點處之插入缺失可指示所利用脫靶分析中之假陽性。

【0253】 含有Spy Cas9 mRNA及sgRNA之脂質奈米顆粒(LNP)調配物在原代人類及食蟹猴肝細胞中之交叉篩選

【0254】 在原代人類肝細胞及原代食蟹猴肝細胞中以劑量反應分析來測試靶向人類*LDHA*之經修飾sgRNA及與食蟹猴*LDHA*同源者之脂質奈米顆粒(LNP)調配物。如實例1中所闡述來調配LNP。如實例1中所闡述來平鋪原代人類及食蟹猴肝細胞。在使用LNP處理之前，將兩種細胞系在37℃、5% CO_2下培育48小時。將LNP在37℃下於含有 6%食蟹猴血清之培養基中培育10分鐘。在培育後，以8點3倍劑量反應曲線自300ng Cas9 mRNA開始將LNP添加至人類或食蟹猴肝細胞中。在處理後96小時裂解細胞以用於如實例1中所闡述之NGS分析。嚮導序列在兩種細胞系中之劑量反應曲線數據展示於圖2及3中。22 nM濃度下之編輯百分比列示於下文之表9及10中。

【0255】 表9展示經由LNP與*Spy Cas9*一起遞送於原代人類肝細胞中之22 nM經測試*LDHA* sgRNA之編輯%、插入(Ins) %及缺失(Del) %之平均值及標準偏差。一式兩份生成該等試樣。

表9：經由LNP以22 nM (關於sgRNA負荷之濃度)遞送至原代人類肝細胞中之sgRNA/Cas9 mRNA之LDHA編輯數據							
嚮導編號	平均編輯%	編輯%標準偏差	平均Ins %	Ins %標準偏差	平均Del %	Del %標準偏差	EC_{50}
G012089	69.10	4.95	22.65	3.04	46.50	1.98	90.93
G012093	89.30	0.99	20.75	0.64	68.65	1.48	30.85
G012095	76.75	2.19	8.70	0.14	68.20	2.40	71.83
G012096	82.00	2.55	1.90	0.42	80.10	2.12	53.27
G012103	84.30	0.00	5.65	1.20	78.75	1.20	8.73
G012111	67.80	2.83	32.95	2.62	34.90	0.14	63.84
G012115	80.05	3.46	34.65	1.91	45.55	1.48	50.98
G012120	74.15	1.91	5.20	1.27	69.00	0.71	48.93
G012133	75.25	1.20	24.55	1.20	50.75	2.33	55.54
G012136	86.50	0.71	1.45	0.07	85.10	0.85	18.54

【0256】表10展示經由LNP與*Spy Cas9*一起遞送於原代食蟹猴肝細胞中之22 nM經測試*LDHA* sgRNA之編輯%、插入(Ins) %及缺失(Del) %之平均值及標準偏差。一式三份生成該等試樣。

表10：經由LNP以22 nM (關於sgRNA負荷之濃度)遞送至原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA/Cas9 mRNA之LDHA編輯數據							
嚮導編號	**平均編輯%**	**編輯%標準偏差**	**平均Ins %**	**Ins %標準偏差**	**平均Del %**	**Del %標準偏差**	**EC_{50}**
G012151	94.87	0.12	78.50	1.39	16.77	1.33	0.599
G012155	96.93	0.23	7.17	0.15	90.83	0.31	0.255
G012157	77.43	3.33	31.77	1.76	46.80	2.17	1.111
G012159	87.73	1.02	20.47	3.37	67.93	3.11	0.950
G012162	95.17	0.64	28.77	0.25	67.17	0.99	0.801
G012164	78.80	0.17	10.17	0.31	69.10	0.20	0.637

表10：經由LNP以22 nM (關於sgRNA負荷之濃度)遞送至原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA/Cas9 mRNA之LDHA編輯數據							
嚮導編號	平均編輯%	編輯%標準偏差	平均Ins %	Ins %標準偏差	平均Del %	Del %標準偏差	EC_{50}
G012165	83.40	2.20	14.87	0.83	69.27	2.72	0.953
G012166	97.47	0.38	82.00	2.07	16.03	2.15	0.250
G012167	96.63	0.29	70.37	0.90	27.87	1.29	0.297
G012169	95.13	1.29	19.77	2.15	75.97	1.06	0.438

【0257】使用脂轉染在原代食蟹猴肝細胞中交叉篩選Spy Cas9 mRNA及sgRNA。在原代食蟹猴肝細胞中以劑量反應分析來測試靶向*LDHA*之經修飾sgRNA。如實例1中所闡述來製備脂轉染試樣。如實例1中所闡述來平鋪原代食蟹猴肝細胞。在脂轉染之前，將細胞在37℃、5% CO_2下培育48小時。將脂轉染試樣在37℃下於含有 6%食蟹猴血清之培養基中培育10分鐘。在培育後，以8點3倍劑量反應曲線自53 nM sgRNA開始將脂轉染試樣添加至食蟹猴肝細胞中(n=2)。在處理後96小時裂解細胞以用於如實例1中所闡述之NGS分析。嚮導序列之劑量反應曲線數據展示於圖12A-12C中。53 nM濃度下之編輯%列示於下文之表11中。

表11：經由脂轉染以53 nM sgRNA遞送至原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據									
嚮導編號	Chr 12 平均編輯%	Chr 12 平均編輯%標準偏差	Chr 12 EC50	Chr 14 平均編輯%	平均 Chr 14 編輯%標準偏差	Chr 14 EC50	Chr 17 平均編輯%	Chr 17 平均編輯%標準偏差	Chr 17 EC50
G012113	60.0	8.9	5.1	61.5	16.5	5.9	70.1	6.6	4.6
G015541	75.4	14.4	4.4	NA	NA	NA	85.4	8.7	4.0

表11：經由脂轉染以53 nM sgRNA遞送至原代食蟹猴肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據

嚮導編號	Chr 12 平均編輯%	Chr 12 平均編輯% 標準偏差	Chr 12 EC50	Chr 14 平均編輯%	Chr 14 平均編輯% 標準偏差	Chr 14 EC50	Chr 17 平均編輯%	Chr 17 平均編輯% 標準偏差	Chr 17 EC50
G015547	69.8	5.7	6.8	76.0	1.1	7.5	76.2	3.5	7.6
G015561	NA	NA	NA	58.3	7.0	6.5	60.3	4.7	7.1
G015571	52.3	9.1	14.7	NA	NA	NA	68.1	6.6	10.2
G015587	70.8	8.5	9.2	78.0	9.2	9.3	80.3	8.1	8.7
G015591	74.6	1.1	8.3	72.3	2.8	8.6	77.9	1.1	6.9
G015594	51.3	3.5	6.8	67.2	6.6	6.1	70.2	5.4	6.7
G015622	66.3	6.9	4.5	4.9	0.3	5.0	NA	NA	NA

【0258】 實例3.表型分析

【0259】 細胞內乳酸脫氫酶A之西方印漬分析

【0260】 將靶向人類*LDHA*之經修飾sgRNA之脂質奈米顆粒(LNP)調配物投與原代人類肝細胞中以生成用於西方印漬之試樣。如實例1中所闡述來調配LNP。如實例1中所闡述來平鋪原代人類肝細胞。在使用LNP處理之前，將細胞在37℃、5% CO_2下培育48小時。將LNP在37℃下於含有 6%食蟹猴血清之培養基中培育10分鐘。在培育後，將LNP以25nM sgRNA/試樣之濃度添加至人類肝細胞中。在轉染後96小時，收集一部分細胞並處理以用於如實例1中所闡述之NGS測序。在轉染後21天收穫剩餘細胞且製備全細胞提取物(WCE)並如實例1中所闡述藉由西方印漬實施分析。

【0261】 該等細胞之編輯數據提供於表12中。

表12：遞送至原代人類肝細胞中之sgRNA之LDHA編輯數據

嚮導編號	PHH中之編輯頻率
G012089	0.871
G012093	0.961
G012095	0.926
G012096	0.93
G012103	0.882
G012111	0.886
G012115	0.933
G012120	0.895
G012133	0.915
G012136	0.895

【0262】 藉由西方印漬分析WCE之LDHA蛋白減少。全長LDHA蛋白具有332個胺基酸且預測分子量為36.6 kD。在對照泳道(未處理細胞)中觀察到此分子量下之帶，但在任一處理泳道(圖4)中則未觀察到。

【0263】 乳酸脫氫酶A之轉錄分析

【0264】 藉由脂轉染將靶向*LDHA*之所選經修飾sgRNA投與原代人類及食蟹猴肝細胞中以生成用於qPCR之試樣。如實例1中所闡述來調配脂轉染試樣。如實例1中所闡述來平鋪原代肝細胞。在使用脂質包處理之前，將細胞在37℃、5% CO_2下培育48小時。將脂轉染試樣在37℃下於含有 6%食蟹猴血清之培養基中培育10分鐘。在培育後，將脂質包以多個濃度添加至肝細胞中。在脂轉染後96小時，收集細胞並如實例1中所闡述處理RNA。在15nM嚮導下原代人類及食蟹猴肝細胞中之平均LDHA轉錄物減少含於下文表13內，其中全劑量-反應數據顯示於圖13A-13B中。

表13：在15nM sgRNA下原代人類及食蟹猴肝細胞中之平均相對LDHA減少				
	原代人類肝細胞		原代食蟹猴肝細胞	
嚮導編號	LDHA表現之平均相對減小	LDHA表現之平均相對減小之標準偏差	LDHA表現之平均相對減小	LDHA表現之平均相對減小之標準偏差
G012113	0.55	0.03	0.82	0
G012115	0.76	0.01	0.88	0.01
G012120	0.73	0	0.72	0.03
G012133	0.61	0.01	0.55	0.03
G015541	0.7	0.01	0.88	0.03
G015547	NA	NA	0.79	0.02
G015561	0.56	0.01	0.85	0.01
G015622	NA	NA	0.82	0.01

【0265】 實例4. PH1小鼠模型中之活體內*Ldha*編輯

【0266】 在此研究中使用野生型及AGT缺陷型小鼠(*Agxt1*$^{-/-}$) (例如缺乏肝AGXT mRNA及蛋白質之無突變小鼠)。AGT缺陷型小鼠展現高草酸鹽尿症及結晶尿且由此代表PH1之表型模型，如先前由Salido等人，Proc Natl Acad Sci USA. 2006 Nov 28;103(48):18249-54所闡述。使用野生型小鼠來確定在AGT缺陷型小鼠中測試何種調配物。

【0267】 在調配LNP之前，類似於實例2中針對靶向人類及食蟹猴*LDHA*之gRNA所闡述，針對編輯效率來篩選包括靶向鼠類*Ldha*之dgRNA之RNP。在已自dgRNA篩選鑑別出活性gRNA之情形下，合成較小組之基於該等gRNA之經修飾sgRNA以用於進一步在活體內評估。

【0268】 將動物稱重且根據體重分組以用於基於組平均重量來製備投藥溶液。經由側向尾部靜脈以0.2 mL/動物之體積(大約10 mL/公斤體

重)來投用含有靶向鼠類*Ldha*之經修飾sgRNA (參見下文表14)之LNP。如實例1中所闡述來調配LNP。在治療後一週，對野生型小鼠實施安樂死且收集肝組織以用於提取DNA且分析鼠類*Ldha*之編輯。如下文表14中所展示，在經治療小鼠中觀察到劑量依賴性編輯程度。

表14：靶向鼠類*Ldha*之sgRNA之LDHA編輯數據

嚮導編號	**sgRNA序列(* = PS鍵聯；「m」= 2'-O-Me核苷酸)**	**劑量(mpk，總RNA負荷)**	**平均編輯%**	**編輯%標準偏差**	**n**
G009438	mG*mU*mU*CACGCGCUGAG CUGUCAGUUUUAGAmGmCm UmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCAmAmCmUmUm GmAmAmAmAmAmGmUmGm GmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmU*mU*mU* mU (SEQ ID NO:86)	0.3	19.20	7.01	5
		1	59.08	9.83	5
		3	74.54	0.74	5
G009439	mG*mG*mG*GGCCCGUCAGC AAGAGGGUUUUAGAmGmCm UmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCAmAmCmUmUm GmAmAmAmAmAmGmUmGm GmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmU*mU*mU* mU (SEQ ID NO:87)	0.3	9.40	2.75	5
		1	37.56	9.30	5
		3	65.94	5.37	5

G009442	mG*mU*mU*GCAAUCUGGAU UCAGCGGUUUUAGAmGmCm UmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCAmAmCmUmUm GmAmAmAmAmAmGmUmGm GmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmU*mU*mU* mU (SEQ ID NO:88)	0.3	15.90	1.74	5
		1	49.98	7.41	5
		3	68.40	3.85	5
G009445	mG*mU*mC*AUGGAAGACAA ACUCAAGUUUUAGAmGmCm UmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCAmAmCmUmUm GmAmAmAmAmAmGmUmGm GmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmU*mU*mU* mU (SEQ ID NO:89)	0.3	12.40	4.60	5
		1	47.62	10.11	5
		3	62.10	4.06	5
G009447	mA*mC*mU*GGGCACUGACG CAGACAGUUUUAGAmGmCm UmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCAmAmCmUmUm GmAmAmAmAmAmGmUmGm GmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmU*mU*mU* mU (SEQ ID NO:90)	0.3	9.48	4.78	5
		1	40.88	11.07	5
		3	66.10	4.69	5

【0269】 在已確定LNP可在活體內編輯小鼠*Ldha*基因之情形下，以劑量反應形式(0、0.25、0.5、1及2 mpk，關於總mRNA負荷)將含有G009439之LNP投與AGT缺陷型小鼠。將該等小鼠飼養於代謝籠中且在各

個時間點收集尿以用於分析草酸鹽含量，例如如由Liebow等人，J Am Soc Nephrol. 2017 Feb;28(2):494-503所闡述。使用增加劑量之LNP展示分別可增加及降低*Ldha*基因編輯及草酸鹽分泌。編輯%及所排泄ug尿草酸鹽/mg肌酸酐含於下文表15內且顯示於圖14A-14C中。

表15：在將含有G009439之LNP投與AGT缺陷型小鼠之後之編輯%及所排泄ug尿草酸鹽/mg肌酸酐。

治療	平均編輯%	平均編輯%標準偏差	平均ug尿草酸鹽/mg肌酸酐	平均尿草酸鹽/mg肌酸酐標準偏差	n
TSS	0.0	0.0	357.3	63.4	3
0.25 mpk Ldha	28.7	10.7	287.2	45.0	3
0.5 mpk Ldha	62.5	2.0	176.4	4.9	3
1 mpk Ldha	81.6	3.8	117.3	13.4	3
2 mpk Ldha	85.5	0.2	122.2	11.5	2

【0270】在確定LNP可減小活體內草酸鹽分泌之後，以關於總mRNA負荷2 mpk之劑量將含有G009439之LNP投與AGT缺陷型小鼠(n=4)。如圖5中所展示，尿草酸鹽含量在治療後一週有所減小且此減小程度持續至投藥後至少5週，然後終止研究。在對照(注射PBS)動物(n=4)中未觀察到減小。每一治療動物中之編輯百分比報告於表16中，且治療後每週之尿草酸鹽減小%展示於表18中。

【0271】在相同研究中，亦向AGT缺陷型小鼠投用含有靶向鼠類*Hao1*之sgRNA (G000723)之LNP (以2 mpk之劑量(n=4))。如亦在圖5及表17中所展示，在使用包括此gRNA之LNP治療後一週草酸鹽含量有所減小，且此減小程度持續至投藥後至少5週。

【0272】G000723:

mC*mA*mC*GUGAGCCAUGCACUGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmG

mAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm

AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm

UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU (SEQ ID NO:85) * = PS鍵聯；

「m」 = 2'-O-Me核苷酸

表16：以2mpk使用包括LDHA靶向gRNA (G009439)之LNP治療之AGXT -/-小鼠之編輯結果

小鼠編號	編輯%	插入%	缺失%
1	90.8	1.1	89.7
2	86.1	1.3	84.8
3	90.5	1.1	89.4
4	90.3	1.2	89.2

表17：以2mpk使用包括HAO1靶向gRNA (G000723)之LNP治療之AGXT -/-小鼠之編輯結果

小鼠編號	編輯%	插入%	缺失%
1	71.1	47.7	23.4
2	83.1	56	27.1
3	81.5	52.8	28.7
4	83.7	54.9	28.8

表18：以2mpk (關於總RNA負荷)使用包括LDHA靶向gRNA (G009439)之LNP治療之AGXT -/-小鼠在5週內之平均草酸鹽含量及自基線之減小%。N=4

收集日期	平均ug草酸鹽/mg肌酸酐	平均減小% ug草酸鹽/mg肌酸酐
基線	407	0.00
第1週	272	33.18
第2週	182	55.25

表18：以2mpk (關於總RNA負荷)使用包括LDHA靶向gRNA (G009439)之LNP治療之AGXT -/-小鼠在5週內之平均草酸鹽含量及自基線之減小%。N=4		
收集日期	平均ug草酸鹽/mg肌酸酐	平均減小% ug草酸鹽/mg肌酸酐
第3週	168	58.59
第4週	146	64.11
第5週	142	65.11

【0273】在已證實在LNP治療之後AGT缺陷型小鼠中之尿草酸鹽減少持續最長5週之情形下，實施其他研究以追蹤尿草酸鹽至投藥後最長15週。以0.3 mpk (n=4)及1 mpk (n=4)之劑量將含有G009439之LNP投與AGT缺陷型小鼠。將該等小鼠飼養於代謝籠中且在各個時間點收集尿以用於分析草酸鹽含量，如上文所闡述。表19展示AGT缺陷型小鼠之編輯結果。在0.3 mpk劑量下達成之平均編輯%為33.42，標準偏差為11.95。在1 mpk劑量下達成之平均編輯%為75.68，標準偏差為7.35。如圖6中所展示，在治療後尿草酸鹽含量有所減小且此減小程度持續至投藥後15週，然後終止研究。圖6中所繪示之數據展示於表20中。在對照(注射PBS)動物(n=3)中未觀察到減小(數據未展示)。

【0274】如實例1中所闡述來處理來自經治療小鼠之肝試樣且運行於西方印漬分析中。使用Licor Odyssey Image Studio Ver 5.2軟體計算LDHA蛋白之減少百分比。使用GAPDH作為加載對照且使用LDHA同時探測。計算每一試樣內GAPDH之密度測定值與涵蓋LDHA帶之總區域相比之比率。在將該等比率正規化至陰性對照泳道之後測定LDHA蛋白之減少百分比。結果展示於表19中且繪示於圖7中。

【0275】經由免疫組織化學染色來進一步表徵經治療及未治療小鼠

中之LDHA蛋白，如實例1中所闡述及圖8中所繪示。與對照小鼠相比，在0.3 mpk劑量小鼠及1mpk劑量小鼠中觀察到LDHA染色逐漸減少。圖9展示表19中之編輯與蛋白質含量之間之相關性，其中R^2值為0.95。

表19. Agxt1-/-小鼠模型編輯及蛋白質數據，15週研究

小鼠編號	mpk G009439	編輯%	插入%	缺失%	剩餘LDHA蛋白(相對於陰性對照)
1	0.3	27.2	0.3	26.9	0.67
2	0.3	37.2	0.5	36.7	0.47
3	0.3	48.3	0.7	47.7	0.53
4	0.3	21.0	0.5	20.6	0.71
5	1	81.6	1.2	80.5	0.13
6	1	72.0	1.0	71.1	0.11
7	1	67.1	0.8	66.3	0.22
8	1	82.0	1.2	80.8	0.21

表20. Agxt1-/-小鼠模型平均尿草酸鹽(對於每一劑量，n=4)

週	G009439劑量 (mpk)	平均尿草酸鹽 (mg/g肌酸酐/24hr)	平均尿草酸鹽標準偏差
0	TSS	377.47	58.22
5	TSS	413.72	77.33
9	TSS	354.77	43.75
15	TSS	345.95	88.18
0	0.3	352.09	39.77
5	0.3	304.78	68.34
9	0.3	255.69	53.17
15	0.3	270.24	37.08
0	1.0	390.46	68.06
5	1.0	123.26	8.94
9	1.0	174.33	25.01
15	1.0	145.91	15.46

【0276】處理來自經治療小鼠之肝及肌肉試樣以分析LDH活性，如實例1中所闡述。在來自經1mpk *Ldha* LNP治療之小鼠之肝試樣中觀察到LDH活性減小。經治療小鼠及對照小鼠之比活性(μmol/min/mg蛋白質)含於下文表21中且數據顯示於圖15A-15B中。

表21：肝及肌肉之比LDH活性

治療	平均比活性 (μmol/min/mg 蛋白質) -肝	平均比活性標準偏差 (μmol/min/mg 蛋白質) -肝	平均比活性 (μmol/min/mg 蛋白質) -肌肉	平均比活性標準偏差 (μmol/min/mg 蛋白質) -肌肉	n
TSS	0.8	0.1	1.9	0.2	3.0
陰性對照嚮導	0.8	0.1	1.8	0.2	3.0
0.3mpk Ldha嚮導	0.7	0.2	1.6	0.5	4.0
1mpk Ldha嚮導	0.2	0.1	1.8	0.1	4.0

【0277】亦分析來自經治療小鼠之肝及血漿試樣之丙酮酸鹽，如實例1中所闡述。丙酮酸鹽係藉由乳酸脫氫酶轉化成乳酸鹽之代謝物(Urbańska K等人，Int J Mol Sci. 2019 Apr 27;20(9))。已證實，來自1mpk治療小鼠之肝試樣中之丙酮酸鹽濃度有所升高，但在經治療小鼠與對照小鼠之間觀察到血漿丙酮酸鹽濃度具有較小差異。該等數據含於表22中且展示於圖16A-16B中。

表22：肝及血漿之丙酮酸鹽量化

治療	平均肝丙酮酸鹽(nmol/g組織)	平均肝丙酮酸鹽標準偏差(nmol/g組織)	平均血漿丙酮酸鹽(μM)	平均血漿丙酮酸鹽標準偏差(μM)	n
TSS	17.40	1.76	41.64	14.29	3
陰性對照嚮導	25.12	8.17	48.76	16.47	3
0.3mpk Ldha 嚮導	19.11	3.58	71.64	10.20	4
1mpk Ldha 嚮導	85.46	35.30	61.32	33.82	4

【0278】 在已證實在LNP治療之後AGT缺陷型小鼠中之尿草酸鹽減少持續最長15週之情形下，實施其他研究以測定腎功能受損之小鼠在LDHA敲低之後清除乳酸鹽之能力。自Jackson實驗室(Bar Harbor, ME)獲得已經受5/6腎切除術或假手術之C51B16雄性小鼠。在手術後一週，對動物抽血以測定基線乳酸鹽含量，如實例1中所闡述。然後以2mpk (n=6)之劑量向動物投用含有G009439之LNP。在投藥後兩週，給予動物包括2g/kg溶於磷酸酯緩衝鹽水中之乳酸鈉(濃度為200mg/mL，約18mM，pH 7.4)之乳酸鹽攻擊，且經腹膜腔內遞送。在攻擊之前且然後在攻擊後15、30、60及180分鐘，自動物尾部抽血。分析血樣之乳酸鹽含量，如實例1中所闡述。與假手術及媒劑治療小鼠相比，在已接收腎切除術手術及LDHA LNP之小鼠中觀察到乳酸鹽清除並無顯著差異。下文表23詳述各動物組中之平均血漿丙酮酸鹽，如亦在圖17中所展示。

表23：腎切除術研究之血漿乳酸鹽清除

	假手術- TSS媒劑對照(n=5)		假手術- 1mpk Ldha (n=6)		5/6腎切除術-TSS媒劑對照(n=5)		5/6腎切除術-1mpk Ldha (n=5)	
時間(min)	平均血漿乳酸鹽(mM)	平均血漿乳酸鹽標準偏差(mM)	平均血漿乳酸鹽(mM)	平均血漿乳酸鹽標準偏差(mM)	平均血漿乳酸鹽(mM)	平均血漿乳酸鹽標準偏差(mM)	平均血漿乳酸鹽(mM)	平均血漿乳酸鹽標準偏差(mM)
0	7.2	2.9	5.9	2.0	9.0	2.3	6.5	2.8
15	24.5	10.3	23.3	4.6	24.2	8.1	21.7	9.1
30	20.4	8.2	17.2	3.7	18.7	4.3	18.1	7.7
60	11.7	4.9	9.4	3.1	12.2	4.5	11.1	4.7
180	6.6	2.6	6.3	2.9	8.4	2.7	5.5	2.8

【序列表】

<110> 美商英特利亞醫療公司(INTELLIA THERAPEUTICS, INC.)

<120> 用於乳酸脫氫酶(LDHA)基因編輯之組合物及方法

<130> 01155-0025-00PCT

<150> US 62/738,956
<151> 2018-09-28

<150> US 62/834,334
<151> 2019-04-15

<150> US 62/841,740
<151> 2019-05-01

<160> 2082

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1
acauagaccu accuuaauca 20

<210> 2
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2
aaauaacuua ugcuuaccac 20

<210> 3
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 3
augcagucaa aagccucacc 20

<210> 4
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 4
ucagggucuu uacggaauaa 20

<210> 5
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 5
ccuaucauac agugcuuaug 20

<210> 6
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 6
ccgauuccgu uaccuaaugg 20

<210> 7
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 7
uagaccuacc uuaaucaugg 20

<210> 8
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 8
uacagagagu ccaauagccc 20

<210> 9
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 9
cuuuuagugc cuguauggag 20

<210> 10
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 10
cccgauuccg uuaccuaaug 20

<210> 11
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 11
ggcuggggca cgucagcaag 20

<210> 12
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 12
ccccauuagg uaacggaauc 20

<210> 13
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 13
aagcugguca uuaucacggc 20

<210> 14
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 14
uacacuuugg gggauccaaa 20

<210> 15
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 15
auuugauguc uuuuaggacu 20

<210> 16
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 16
cuccaagcug gucauuauca 20

<210> 17
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 17
guccaauaug gcaacucuaa 20

<210> 18
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 18
ggcuacacau ccugggcuau 20

<210> 19
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 19
uaccuucauu aagauacuga 20

<210> 20
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 20
agcccgauuc cguuaccuaa 20

<210> 21
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 21
gccuuucccc cauuagguaa 20

<210> 22
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 22
uacgcuggac caaauuaaga 20

<210> 23
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 23
uauuucuuuu agugccugua 20

<210> 24
<211> 20

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 24
agcuggucau uaucacggcu 20

<210> 25
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 25
gcuggucauu aucacggcug 20

<210> 26
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 26
gcuggggcac gucagcaaga 20

<210> 27
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 27
cuuuaucagu cccuaaaucu 20

<210> 28
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 28
gcccgauucc guuaccuaau 20

<210> 29
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 29
uuucaucuuc agggucuuua 20

<210> 30
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 30
acaacuguaa ucuuauucug 20

<210> 31
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 31
cauuaagaua cugauggcac 20

<210> 32
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 32
uuuagggacu gauaaagaua 20

<210> 33
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 33
cugauaaaga uaaggaacag 20

<210> 34
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 34
uuaccuaaug ggggaaaggc 20

<210> 35
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 35
uggaguggaa ugaauguugc 20

<210> 36
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 36
ucuuuaucag ucccuaaauc 20

<210> 37
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 37
uccguuaccu aaugggggaa 20

<210> 38
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 38
uaucugcacu cuucuucaaa 20

<210> 39
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 39
uaccuaaugg gggaaaggcu 20

<210> 40
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 40
agccgugaua augaccagcu 20

<210> 41
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 41
cccccauuag guaacggaau 20

<210> 42
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 42
uuuaaaauug cagcuccuuu 20

<210> 43
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 43
gcugauuuau aaucuucuaa 20

<210> 44
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 44
acauucauuc cacuccauac 20

<210> 45
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 45
ccuuaaucau gguggaaacu 20

<210> 46
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 46
accuuaauca ugguggaaac 20

<210> 47
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 47
ccuuugccag agacaaucuu 20

<210> 48
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 48
gaaggugacu cugacuucug 20

<210> 49
<211> 20

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 49
uauuggaagc gguugcaauc 20

<210> 50
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 50
aagucagagu caccuucaca 20

<210> 51
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 51
gacucugacu ucugaggaag 20

<210> 52
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 52
ugcaaccgcu uccaauaaca 20

<210> 53
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 53
uauuuucucc uuuuucauag 20

<210> 54
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 54
uuuuuuucau uucaucuuca 20

<210> 55
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 55
accaaaguag ucacuguuca 20

<210> 56
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 56
acgcaguuaa aaggcucacc 20

<210> 57
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 57
uugcuuauug uuucaaaucc 20

<210> 58
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 58
uucccccuau agauuccuuc 20

<210> 59
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 59
ucgagcuuug uggcaguuag 20

<210> 60
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 60
uuggggguuaa uaaaccgcga 20

<210> 61
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 61
ugaaggccca uaccuuagcg 20

<210> 62
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 62
cgguuuauua accccaagug 20

<210> 63
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 63
cccauaccuu agcguggaaa 20

<210> 64
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 64
ggcuuuucug cacguaccuc 20

<210> 65
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 65
gaaaaggaau aucgacguuu 20

<210> 66
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 66
accgcgaugg gugagcccuc 20

<210> 67
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 67
gcgguuuauu aaccccaagu 20

<210> 68
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 68
accgcacgcu ucagugccuu 20

<210> 69
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 69
ggaaaaggaa uaucgacguu 20

<210> 70
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 70
guguaaguau agccuccuga 20

<210> 71
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 71
gauauuccuu uuccacgcua 20

<210> 72
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 72
gcgaugggug agcccucagg 20

<210> 73
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 73
ggaaaggcca gccccacuug 20

<210> 74
<211> 20

<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 74
caccgcacgc uucagugccu 20

<210> 75
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 75
ugccacaaag cucgagccca 20

<210> 76
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 76
gguguaagua uagccuccug 20

<210> 77
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 77
uccugagggc ucacccaucg 20

<210> 78
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 78
aggaaaggcc agccccacuu 20

<210> 79
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 79
uuauuaaccc caagugggggc 20

<210> 80
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 80
gaggaaaggc cagccccacu 20

<210> 81
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 81
gcucaaagug aucuugucug 20

<210> 82
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 82
ccuggcugug uccuugcugu 20

<210> 83
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 83
cgcgguuuau uaaccccaag 20

<210> 84
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 84
uggggguuaau aaaccgcgau 20

<210> 85
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 85
cacgugagcc augcacugca guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 86
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 86
guucacgcgc ugagcuguca guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 87
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 87
gggggcccgu cagcaagagg guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 88
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 88
guugcaaucu ggauucagcg guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 89
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 89
gucauggaag acaaacucaa guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 90
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 90
acugggcacu gacgcagaca guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60
cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 91

<400> 91
000

<210> 92

<400> 92
000

<210> 93

<400> 93
000

<210> 94

<400> 94
000

<210> 95

<400> 95
000

<210> 96

<400> 96
000

<210> 97

<400> 97
000

<210> 98

<400> 98
000

<210> 99

<400> 99
000

<210> 100
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 100
uuucccaaaa accguguuau 20

<210> 101
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 101
gaaagagguu cacaagcagg 20

<210> 102
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 102
guggaaagag guucacaagc 20

<210> 103
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 103
gagaugaugg aucuccaaca 20

<210> 104
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 104
uaaggaaaag gcugccaugu 20

<210> 105
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 105
uguaacugca aacuccaagc 20

<210> 106
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 106
cuuccaauaa cacgguuuuu 20

<210> 107
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 107
aaaaaccgug uuauuggaag 20

<210> 108
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 108
guucacccau uaagcuguca 20

<210> 109
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 109
uucacccauu aagcugucau 20

<210> 110
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 110
acccauuaag cugucauggg 20

<210> 111
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 111

uggaaucucc auguucccca 20

<210> 112
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 112
agaguauaau gaagaaucuu 20

<210> 113
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 113
gcugauucau aaucuucuaa 20

<210> 114
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 114
caaauugaag ggagagauga 20

<210> 115
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 115
ucuuuggugu ucuaaggaaa 20

<210> 116
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 116
caauaagcaa cuugcaguuc 20

<210> 117
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 117
acaauaagca acuugcaguu 20

<210> 118
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 118
gcuuauuguu ucaaauccag 20

<210> 119
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 119
acuuccaaua acacgguuuu 20

<210> 120

<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 120
cccauuaagc ugucaugggu 20

<210> 121
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 121
uccacuccau acaggcacac 20

<210> 122
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 122
aagacucugc acccagauuu 20

<210> 123
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 123
agacucugca cccagauuua 20

<210> 124
<211> 20
<212> RNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 124
ccaguuucca ccaugauuaa 20

<210> 125
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 125
accaugauua agggucucua 20

<210> 126
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 126
auagagaccc uuaaucaugg 20

<210> 127
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 127
uccauagaga cccuuaauca 20

<210> 128
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 128
uaagggucuc uauggaauaa 20

<210> 129
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 129
agauaaggaa caguggaaag 20

<210> 130
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 130
cagaauaaga uuacaguugu 20

<210> 131
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 131
agaauaagau uacaguuguu 20

<210> 132
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 132
aacaacugua aucuuauucu 20

<210> 133
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 133
gaauaagauu acaguuguug 20

<210> 134
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 134
caacaacugu aaucuuauuc 20

<210> 135
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 135
aagauuacag uuguuggggu 20

<210> 136
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 136

guuguuggggg uuggugcugu 20

<210> 137
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 137
ugccaucagu aucuuaauga 20

<210> 138
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 138
guccuucauu aagauacuga 20

<210> 139
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 139
caguaucuua augaaggacu 20

<210> 140
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 140
ugucaucgaa gacaaauuga 20

<210> 141
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 141
gucaucgaag acaaauugaa 20

<210> 142
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 142
agacaaucuu ugguguucua 20

<210> 143
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 143
agaacaccaa agauugucuc 20

<210> 144
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 144
ggcuggggca cgucaacaag 20

<210> 145

<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 145
gcuggggcac gucaacaaga 20

<210> 146
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 146
gggagaaagc cgucuuaauu 20

<210> 147
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 147
uaaagauguu cacguuacgc 20

<210> 148
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 148
gggcuguauu uuacaacauu 20

<210> 149
<211> 20
<212> RNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 149
uacguggcuu ggaagauaag 20

<210> 150
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 150
acuuaucuuc caagccacgu 20

<210> 151
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 151
ugcaaccacu uccaauaaca 20

<210> 152
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 152
agccagauuc cguuaccuga 20

<210> 153
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 153
gccagauucc guuaccugau 20

<210> 154
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 154
ccagauuccg uuaccugaug 20

<210> 155
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 155
ccccaucagg uaacggaauc 20

<210> 156
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 156
cccacccaug acagcuuaau 20

<210> 157
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 157
acccacccau gacagcuuaa 20

<210> 158
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 158
agcugucaug ggugggguccu 20

<210> 159
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 159
gcugucaugg gugggguccuu 20

<210> 160
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 160
cugucauggg ugggguccuug 20

<210> 161
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 161

gggugggucc uuggggaaca 20

<210> 162
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 162
gagauuccag ugugccugua 20

<210> 163
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 163
uccagugugc cuguauggag 20

<210> 164
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 164
aucugggugc agagucuuca 20

<210> 165
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 165
aaucugggug cagagucuuc 20

<210> 166
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 166
uaugagguga ucaaacucaa 20

<210> 167
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 167
uggacucucu guagcagauu 20

<210> 168
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 168
cccaguuucc accaugauua 20

<210> 169
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 169
uggggguuggu gcuguuggca 20

<210> 170

<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 170
gaacaccaaa gauugucucu 20

<210> 171
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 171
cagauuccgu uaccugaugg 20

<210> 172
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 172
uuaccugaug ggggaaagac 20

<210> 173
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 173
gucuuucccc caucagguaa 20

<210> 174
<211> 20
<212> RNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 174
uaccugaugg gggaaagacu 20

<210> 175
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 175
cucccagucu uucccccauc 20

<210> 176
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 176
aacucaaagg cuacacaucc 20

<210> 177
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 177
acucaaaggc uacacauccu 20

<210> 178
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 178
ggcuacacau ccugggccau 20

<210> 179
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 179
uacagagagu ccaauggccc 20

<210> 180
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 180
aucugcuaca gagaguccaa 20

<210> 181
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 181
cccuuaauca ugguggaaac 20

<210> 182
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 182
ccuugcauuu ugggacagaa 20

<210> 183
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 183
ccauucuguc ccaaaaugca 20

<210> 184
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 184
aguggauauc uugaccuacg 20

<210> 185
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 185
auaucuugac cuacguggcu 20

<210> 186
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 186

uauuggaagu gguugcaauc 20

<210> 187
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 187
ucuuucccag agacaaucuu 20

<210> 188
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 188
ggugguugag agugcuuaug 20

<210> 189
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 189
ccucaguguu ccuugcauuu 20

<210> 190
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 190
cucaguguuc cuugcauuuu 20

<210> 191
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 191
ccaaaaugca aggaacacug 20

<210> 192
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 192
acguagguca agauauccac 20

<210> 193

<400> 193
000

<210> 194

<400> 194
000

<210> 195

<400> 195
000

<210> 196

<400> 196
000

<210> 197

<400> 197
000

<210> 198

<400> 198
000

<210> 199

<400> 199
000

<210> 200
<211> 22
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 200
guuuuagagc uaugcuguuu ug 22

<210> 201
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 201
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 202
<211> 68
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 202
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uuggcaccga 60

gucggugc 68

<210> 203
<211> 76
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 203
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugc 76

<210> 204

<400> 204
000

<210> 205

<400> 205
000

<210> 206

<400> 206
000

<210> 207

<400> 207
000

<210> 208

<400> 208
000

<210> 209

<400> 209
000

<210> 210

<400> 210
000

<210> 211

<400> 211
000

<210> 212

<400> 212
000

<210> 213

<400> 213
000

<210> 214

<400> 214
000

<210> 215

<400> 215
000

<210> 216

<400> 216
000

<210> 217

<400> 217
000

<210> 218

<400> 218
000

<210> 219

<400> 219
000

<210> 220

<400> 220
000

<210> 221

<400> 221
000

<210> 222

<400> 222
000

<210> 223

<400> 223
000

<210> 224

<400> 224
000

<210> 225

<400> 225
000

<210> 226

<400> 226
000

<210> 227

<400> 227
000

<210> 228

<400> 228
000

<210> 229

<400> 229
000

<210> 230

<400> 230
000

<210> 231

<400> 231
000

<210> 232

<400> 232
000

<210> 233

<400> 233
000

<210> 234

<400> 234
000

<210> 235

<400> 235
000

<210> 236

<400> 236
000

<210> 237

<400> 237
000

<210> 238

<400> 238
000

<210> 239

<400> 239
000

<210> 240

<400> 240
000

<210> 241

<400> 241
000

<210> 242

<400> 242
000

<210> 243

<400> 243
000

<210> 244

<400> 244
000

<210> 245

<400> 245
000

<210> 246

<400> 246
000

<210> 247

<400> 247
000

<210> 248

<400> 248
000

<210> 249

<400> 249
000

<210> 250

<400> 250
000

<210> 251

<400> 251
000

<210> 252

<400> 252
000

<210> 253

<400> 253
000

<210> 254

<400> 254
000

<210> 255

<400> 255
000

<210> 256

<400> 256
000

<210> 257

<400> 257
000

<210> 258

<400> 258
000

<210> 259

<400> 259
000

<210> 260

<400> 260
000

<210> 261

<400> 261
000

<210> 262

<400> 262
000

<210> 263

<400> 263
000

<210> 264

<400> 264
000

<210> 265

<400> 265
000

<210> 266

<400> 266
000

<210> 267

<400> 267
000

<210> 268

<400> 268
000

<210> 269

<400> 269
000

<210> 270

<400> 270
000

<210> 271

<400> 271
000

<210> 272

<400> 272
000

<210> 273

<400> 273
000

<210> 274

<400> 274
000

<210> 275

<400> 275
000

<210> 276

<400> 276
000

<210> 277

<400> 277
000

<210> 278

<400> 278
000

<210> 279

<400> 279
000

<210> 280

<400> 280
000

<210> 281

<400> 281
000

<210> 282

<400> 282
000

<210> 283

<400> 283
000

<210> 284

<400> 284
000

<210> 285

<400> 285
000

<210> 286

<400> 286
000

<210> 287

<400> 287
000

<210> 288

<400> 288
000

<210> 289

<400> 289
000

<210> 290

<400> 290
000

<210> 291

<400> 291
000

<210> 292

<400> 292
000

<210> 293

<400> 293
000

<210> 294

<400> 294
000

<210> 295

<400> 295
000

<210> 296

<400> 296
000

<210> 297

<400> 297
000

<210> 298

<400> 298
000

<210> 299

<400> 299
000

<210> 300
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(20)
<223> n係a、c、g或u

<400> 300
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60
cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 301

<400> 301
000

<210> 302

<400> 302
000

<210> 303

<400> 303
000

<210> 304

<400> 304
000

<210> 305

<400> 305
000

<210> 306

<400> 306
000

<210> 307

<400> 307
000

<210> 308

<400> 308
000

<210> 309

<400> 309
000

<210> 310

<400> 310
000

<210> 311

<400> 311
000

<210> 312

<400> 312
000

<210> 313

<400> 313
000

<210> 314

<400> 314
000

<210> 315

<400> 315
000

<210> 316

<400> 316
000

<210> 317

<400> 317
000

<210> 318

<400> 318
000

<210> 319

<400> 319
000

<210> 320

<400> 320
000

<210> 321

<400> 321
000

<210> 322

<400> 322
000

<210> 323

<400> 323
000

<210> 324

<400> 324
000

<210> 325

<400> 325
000

<210> 326

<400> 326
000

<210> 327

<400> 327
000

<210> 328

<400> 328
000

<210> 329

<400> 329
000

<210> 330

<400> 330
000

<210> 331

<400> 331
000

<210> 332

<400> 332
000

<210> 333

<400> 333
000

<210> 334

<400> 334
000

<210> 335

<400> 335
000

<210> 336

<400> 336
000

<210> 337

<400> 337
000

<210> 338

<400> 338
000

<210> 339

<400> 339
000

<210> 340

<400> 340
000

<210> 341

<400> 341
000

<210> 342

<400> 342
000

<210> 343

<400> 343
000

<210> 344

<400> 344
000

<210> 345

<400> 345
000

<210> 346

<400> 346
000

<210> 347

<400> 347
000

<210> 348

<400> 348
000

<210> 349

<400> 349
000

<210> 350

<400> 350
000

<210> 351

<400> 351
000

<210> 352

<400> 352
000

<210> 353

<400> 353
000

<210> 354

<400> 354
000

<210> 355

<400> 355
000

<210> 356

<400> 356
000

<210> 357

<400> 357
000

<210> 358

<400> 358
000

<210> 359

<400> 359
000

<210> 360

<400> 360
000

<210> 361

<400> 361
000

<210> 362

<400> 362
000

<210> 363

<400> 363
000

<210> 364

<400> 364
000

<210> 365

<400> 365
000

<210> 366

<400> 366
000

<210> 367

<400> 367
000

<210> 368

<400> 368
000

<210> 369

<400> 369
000

<210> 370

<400> 370
000

<210> 371

<400> 371
000

<210> 372

<400> 372
000

<210> 373

<400> 373
000

<210> 374

<400> 374
000

<210> 375

<400> 375
000

<210> 376

<400> 376
000

<210> 377

<400> 377
000

<210> 378

<400> 378
000

<210> 379

<400> 379
000

<210> 380

<400> 380
000

<210> 381

<400> 381
000

<210> 382

<400> 382
000

<210> 383

<400> 383
000

<210> 384

<400> 384
000

<210> 385

<400> 385
000

<210> 386

<400> 386
000

<210> 387

<400> 387
000

<210> 388

<400> 388
000

<210> 389

<400> 389
000

<210> 390

<400> 390
000

<210> 391

<400> 391
000

<210> 392

<400> 392
000

<210> 393

<400> 393
000

<210> 394

<400> 394
000

<210> 395

<400> 395
000

<210> 396

<400> 396
000

<210> 397

<400> 397
000

<210> 398

<400> 398
000

<210> 399

<400> 399
000

<210> 400
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 400
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 401
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 401
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 402
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 402
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 403
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 403
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 404
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 404
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 405
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 405
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 406
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 406
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 407
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 407
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 408
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 408
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 409
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 409
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 410

<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 410
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 411
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 411
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 412
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 412
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 413
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 413

guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 414
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 414
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 415
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 415
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 416
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 416
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 417
<211> 80
<212> RNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 417
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 418
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 418
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 419
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 419
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 420
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 420
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 421
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 421
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 422
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 422
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 423
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 423
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 424
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 424
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 425
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 425
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 426
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 426
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 427
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 427
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 428
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 428
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 429
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 429
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 430
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 430
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 431
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 431
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 432
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 432
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 433
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 433
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 434
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 434
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 435

<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 435
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 436
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 436
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 437
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 437
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 438
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 438

guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 439
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 439
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 440
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 440
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 441
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 441
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 442
<211> 80
<212> RNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 442
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 443
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 443
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 444
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 444
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 445
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 445
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 446
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 446
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 447
<211> 80
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 447
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60

ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 448
<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(20)
<223> n係a, c, g或u

<400> 448
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 20

<210> 449

<211> 20
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(20)
<223> n係a、c、g或u

<400> 449
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 20

<210> 450
<211> 68
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 450
guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uuggcaccga 60

gucggugc 68

<210> 451

<400> 451
000

<210> 452

<400> 452
000

<210> 453

<400> 453
000

<210> 454

<400> 454
000

<210> 455

<400> 455
000

<210> 456

<400> 456
000

<210> 457

<400> 457
000

<210> 458

<400> 458
000

<210> 459

<400> 459
000

<210> 460

<400> 460
000

<210> 461

<400> 461
000

<210> 462

<400> 462
000

<210> 463

<400> 463
000

<210> 464

<400> 464
000

<210> 465

<400> 465
000

<210> 466

<400> 466
000

<210> 467

<400> 467
000

<210> 468

<400> 468
000

<210> 469

<400> 469
000

<210> 470

<400> 470
000

<210> 471

<400> 471
000

<210> 472

<400> 472
000

<210> 473

<400> 473
000

<210> 474

<400> 474
000

<210> 475

<400> 475
000

<210> 476

<400> 476
000

<210> 477

<400> 477
000

<210> 478

<400> 478
000

<210> 479

<400> 479
000

<210> 480

<400> 480
000

<210> 481

<400> 481
000

<210> 482

<400> 482
000

<210> 483

<400> 483
000

<210> 484

<400> 484
000

<210> 485

<400> 485
000

<210> 486

<400> 486
000

<210> 487

<400> 487
000

<210> 488

<400> 488
000

<210> 489

<400> 489
000

<210> 490

<400> 490
000

<210> 491

<400> 491
000

<210> 492

<400> 492
000

<210> 493

<400> 493
000

<210> 494

<400> 494
000

<210> 495

<400> 495
000

<210> 496

<400> 496
000

<210> 497

<400> 497
000

<210> 498

<400> 498
000

<210> 499

<400> 499
000

<210> 500

<400> 500
000

<210> 501
<211> 4411
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 501
gggtcccgca gtcggcgtcc agcggctctg cttgttcgtg tgtgtgtcgt tgcaggcctt 60

attcggatcc gccaccatgg acaagaagta cagcatcgga ctggacatcg gaacaaacag 120

cgtcggatgg gcagtcatca cagacgaata caaggtcccg agcaagaagt tcaaggtcct 180

gggaaacaca gacagacaca gcatcaagaa gaacctgatc ggagcactgc tgttcgacag 240

cggagaaaca gcagaagcaa caagactgaa gagaacagca agaagaagat acacaagaag 300

aaagaacaga atctgctacc tgcaggaaat cttcagcaac gaaatggcaa aggtcgacga 360

cagcttcttc cacagactgg aagaaagctt cctggtcgaa gaagacaaga agcacgaaag 420

acacccgatc ttcggaaaca tcgtcgacga agtcgcatac cacgaaaagt acccgacaat 480

ctaccacctg agaaagaagc tggtcgacag cacagacaag gcagacctga gactgatcta 540

cctggcactg gcacacatga tcaagttcag aggacacttc ctgatcgaag gagacctgaa 600

cccggacaac agcgacgtcg acaagctgtt catccagctg gtccagacat acaaccagct 660

gttcgaagaa aacccgatca acgcaagcgg agtcgacgca aaggcaatcc tgagcgcaag 720

actgagcaag agcagaagac tggaaaacct gatcgcacag ctgccgggag aaaagaagaa 780

cggactgttc ggaaacctga tcgcactgag cctgggactg acaccgaact tcaagagcaa 840

cttcgacctg gcagaagacg caaagctgca gctgagcaag gacacatacg acgacgacct 900

ggacaacctg ctggcacaga tcggagacca gtacgcagac ctgttcctgg cagcaaagaa 960

cctgagcgac gcaatcctgc tgagcgacat cctgagagtc aacacagaaa tcacaaaggc 1020

accgctgagc gcaagcatga tcaagagata cgacgaacac caccaggacc tgacactgct 1080

gaaggcactg gtcagacagc agctgccgga aaagtacaag gaaatcttct tcgaccagag 1140

caagaacgga tacgcaggat acatcgacgg aggagcaagc caggaagaat tctacaagtt 1200

catcaagccg atcctggaaa agatggacgg aacagaagaa ctgctggtca agctgaacag 1260

agaagacctg ctgagaaagc agagaacatt cgacaacgga agcatcccgc accagatcca 1320

cctgggagaa ctgcacgcaa tcctgagaag acaggaagac ttctacccgt tcctgaagga 1380

caacagagaa aagatcgaaa agatcctgac attcagaatc ccgtactacg tcggaccgct 1440

ggcaagagga aacagcagat tcgcatggat gacaagaaag agcgaagaaa caatcacacc 1500

gtggaacttc gaagaagtcg tcgacaaggg agcaagcgca cagagcttca tcgaaagaat 1560

gacaaacttc gacaagaacc tgccgaacga aaaggtcctg ccgaagcaca gcctgctgta 1620

cgaatacttc acagtctaca acgaactgac aaaggtcaag tacgtcacag aaggaatgag 1680

aaagccggca ttcctgagcg gagaacagaa gaaggcaatc gtcgacctgc tgttcaagac 1740

aaacagaaag gtcacagtca agcagctgaa ggaagactac ttcaagaaga tcgaatgctt 1800

cgacagcgtc gaaatcagcg gagtcgaaga cagattcaac gcaagcctgg gaacatacca 1860

cgacctgctg aagatcatca aggacaagga cttcctggac aacgaagaaa acgaagacat 1920

cctggaagac atcgtcctga cactgacact gttcgaagac agagaaatga tcgaagaaag 1980

actgaagaca tacgcacacc tgttcgacga caaggtcatg aagcagctga agagaagaag 2040

atacacagga tggggaagac tgagcagaaa gctgatcaac ggaatcagag acaagcagag 2100

cggaaagaca atcctggact tcctgaagag cgacggattc gcaaacagaa acttcatgca 2160

gctgatccac gacgacagcc tgacattcaa ggaagacatc cagaaggcac aggtcagcgg 2220

acagggagac agcctgcacg aacacatcgc aaacctggca ggaagcccgg caatcaagaa 2280

gggaatcctg cagacagtca aggtcgtcga cgaactggtc aaggtcatgg gaagacacaa 2340

gccggaaaac atcgtcatcg aaatggcaag agaaaaccag acaacacaga agggacagaa 2400

gaacagcaga gaaagaatga agagaatcga agaaggaatc aaggaactgg gaagccagat 2460

cctgaaggaa cacccggtcg aaaacacaca gctgcagaac gaaaagctgt acctgtacta 2520

cctgcagaac ggaagagaca tgtacgtcga ccaggaactg gacatcaaca gactgagcga 2580

ctacgacgtc gaccacatcg tcccgcagag cttcctgaag gacgacagca tcgacaacaa 2640

ggtcctgaca agaagcgaca agaacagagg aaagagcgac aacgtcccga gcgaagaagt 2700

cgtcaagaag atgaagaact actggagaca gctgctgaac gcaaagctga tcacacagag 2760

aaagttcgac aacctgacaa aggcagagag aggaggactg agcgaactgg acaaggcagg 2820

attcatcaag agacagctgg tcgaaacaag acagatcaca aagcacgtcg cacagatcct 2880

ggacagcaga atgaacacaa agtacgacga aaacgacaag ctgatcagag aagtcaaggt 2940

catcacactg aagagcaagc tggtcagcga cttcagaaag gacttccagt tctacaaggt 3000

cagagaaatc aacaactacc accacgcaca cgacgcatac ctgaacgcag tcgtcggaac 3060

agcactgatc aagaagtacc cgaagctgga aagcgaattc gtctacggag actacaaggt 3120

ctacgacgtc agaaagatga tcgcaaagag cgaacaggaa atcggaaagg caacagcaaa 3180

gtacttcttc tacagcaaca tcatgaactt cttcaagaca gaaatcacac tggcaaacgg 3240

agaaatcaga aagagaccgc tgatcgaaac aaacggagaa acaggagaaa tcgtctggga 3300

caagggaaga gacttcgcaa cagtcagaaa ggtcctgagc atgccgcagg tcaacatcgt 3360

caagaagaca gaagtccaga caggaggatt cagcaaggaa agcatcctgc cgaagagaaa 3420

cagcgacaag ctgatcgcaa gaaagaagga ctgggacccg aagaagtacg gaggattcga 3480

cagcccgaca gtcgcataca gcgtcctggt cgtcgcaaag gtcgaaaagg gaaagagcaa 3540

gaagctgaag agcgtcaagg aactgctggg aatcacaatc atggaaagaa gcagcttcga 3600

aaagaacccg atcgacttcc tggaagcaaa gggatacaag gaagtcaaga aggacctgat 3660

catcaagctg ccgaagtaca gcctgttcga actggaaaac ggaagaaaga gaatgctggc 3720

aagcgcagga gaactgcaga agggaaacga actggcactg ccgagcaagt acgtcaactt 3780

cctgtacctg gcaagccact acgaaaagct gaagggaagc ccggaagaca acgaacagaa 3840

gcagctgttc gtcgaacagc acaagcacta cctggacgaa atcatcgaac agatcagcga 3900

attcagcaag agagtcatcc tggcagacgc aaacctggac aaggtcctga gcgcatacaa 3960

caagcacaga gacaagccga tcagagaaca ggcagaaaac atcatccacc tgttcacact 4020

gacaaacctg ggagcaccgg cagcattcaa gtacttcgac acaacaatcg acagaaagag 4080

atacacaagc acaaaggaag tcctggacgc aacactgatc caccagagca tcacaggact 4140

gtacgaaaca agaatcgacc tgagccagct gggaggagac ggaggaggaa gcccgaagaa 4200

gaagagaaag gtctagctag ccatcacatt taaaagcatc tcagcctacc atgagaataa 4260

gagaaagaaa atgaagatca atagcttatt catctctttt tctttttcgt tggtgtaaag 4320

ccaacaccct gtctaaaaaa cataaatttc tttaatcatt ttgcctcttt tctctgtgct 4380

tcaattaata aaaaatggaa agaacctcga g 4411

<210> 502
<211> 4107
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 502
auggacaaga aguacagcau cggacuggac aucggaacaa acagcgucgg augggcaguc 60

aucacagacg aauacaaggu cccgagcaag aaguucaagg uccugggaaa cacagacaga 120

cacagcauca agaagaaccu gaucggagca cugcuguucg acagcggaga aacagcagaa 180

gcaacaagac ugaagagaac agcaagaaga agauacacaa gaagaaagaa cagaaucugc 240

uaccugcagg aaaucuucag caacgaaaug gcaaaggucg acgacagcuu cuuccacaga 300

cuggaagaaa gcuuccuggu cgaagaagac aagaagcacg aaagacaccc gaucuucgga 360

aacaucgucg acgaagucgc auaccacgaa aaguacccga caaucuacca ccugagaaag 420

aagcuggucg acagcacaga caaggcagac cugagacuga ucuaccuggc acuggcacac 480

augaucaagu ucagaggaca cuuccugauc gaaggagacc ugaacccgga caacagcgac 540

gucgacaagc uguucaucca gcugguccag acauacaacc agcuguucga agaaaacccg 600

aucaacgcaa gcggagucga cgcaaaggca auccugagcg caagacugag caagagcaga 660

agacuggaaa accugaucgc acagcugccg ggagaaaaga agaacggacu guucggaaac 720

cugaucgcac ugagccuggg acugacaccg aacuucaaga gcaacuucga ccuggcagaa 780

gacgcaaagc ugcagcugag caaggacaca uacgacgacg accuggacaa ccugcuggca 840

cagaucggag accaguacgc agaccuguuc cuggcagcaa agaaccugag cgacgcaauc 900

cugcugagcg acauccugag agucaacaca gaaaucacaa aggcaccgcu gagcgcaagc 960

augaucaaga gauacgacga acaccaccag gaccugacac ugcugaaggc acuggucaga 1020

cagcagcugc cggaaaagua caaggaaauc uucuucgacc agagcaagaa cggauacgca 1080

ggauacaucg acggaggagc aagccaggaa gaauucuaca aguucaucaa gccgauccug 1140

gaaaagaugg acggaacaga agaacugcug gucaagcuga acagagaaga ccugcugaga 1200

aagcagagaa cauucgacaa cggaagcauc ccgcaccaga uccaccuggg agaacugcac 1260

gcaauccuga gaagacagga agacuucuac ccguuccuga aggacaacag agaaaagauc 1320

gaaaagaucc ugacauucag aaucccguac uacgucggac cgcuggcaag aggaaacagc 1380

agauucgcau ggaugacaag aaagagcgaa gaaacaauca caccguggaa cuucgaagaa 1440

gucgucgaca agggagcaag cgcacagagc uucaucgaaa gaaugacaaa cuucgacaag 1500

aaccugccga acgaaaaggu ccugccgaag cacagccugc uguacgaaua cuucacaguc 1560

uacaacgaac ugacaaaggu caaguacguc acagaaggaa ugagaaagcc ggcauuccug 1620

agcggagaac agaagaaggc aaucgucgac cugcuguuca agacaaacag aaaggucaca 1680

gucaagcagc ugaaggaaga cuacuucaag aagaucgaau gcuucgacag cgucgaaauc 1740

agcggagucg aagacagauu caacgcaagc cugggaacau accacgaccu gcugaagauc 1800

aucaaggaca aggacuuccu ggacaacgaa gaaaacgaag acauccugga agacaucguc 1860

cugacacuga cacuguucga agacagagaa augaucgaag aaagacugaa gacauacgca 1920

caccuguucg acgacaaggu caugaagcag cugaagagaa gaagauacac aggaugggga 1980

agacugagca gaaagcugau caacggaauc agagacaagc agagcggaaa gacaauccug 2040

gacuuccuga agagcgacgg auucgcaaac agaaacuuca ugcagcugau ccacgacgac 2100

agccugacau ucaaggaaga cauccagaag gcacagguca gcggacaggg agacagccug 2160

cacgaacaca ucgcaaaccu ggcaggaagc ccggcaauca agaagggaau ccugcagaca 2220

gucaaggucg ucgacgaacu ggucaagguc augggaagac acaagccgga aaacaucguc 2280

aucgaaaugg caagagaaaa ccagacaaca cagaagggac agaagaacag cagagaaaga 2340

augaagagaa ucgaagaagg aaucaaggaa cugggaagcc agauccugaa ggaacacccg 2400

gucgaaaaca cacagcugca gaacgaaaag cuguaccugu acuaccugca gaacggaaga 2460

gacauguacg ucgaccagga acuggacauc aacagacuga gcgacuacga cgucgaccac 2520

aucgucccgc agagcuuccu gaaggacgac agcaucgaca acaagguccu gacaagaagc 2580

gacaagaaca gaggaaagag cgacaacguc ccgagcgaag aagucgucaa gaagaugaag 2640

aacuacugga gacagcugcu gaacgcaaag cugaucacac agagaaaguu cgacaaccug 2700

acaaaggcag agagaggagg acugagcgaa cuggacaagg caggauucau caagagacag 2760

cuggucgaaa caagacagau cacaaagcac gucgcacaga uccuggacag cagaaugaac 2820

acaaaguacg acgaaaacga caagcugauc agagaaguca aggucaucac acugaagagc 2880

aagcugguca gcgacuucag aaaggacuuc caguucuaca aggucagaga aaucaacaac 2940

uaccaccacg cacacgacgc auaccugaac gcagucgucg gaacagcacu gaucaagaag 3000

uacccgaagc uggaaagcga auucgucuac ggagacuaca aggucuacga cgucagaaag 3060

augaucgcaa agagcgaaca ggaaaucgga aaggcaacag caaaguacuu cuucuacagc 3120

aacaucauga acuucuucaa gacagaaauc acacuggcaa acggagaaau cagaaagaga 3180

ccgcugaucg aaacaaacgg agaaacagga gaaaucgucu gggacaaggg aagagacuuc 3240

gcaacaguca gaaagguccu gagcaugccg caggucaaca ucgucaagaa gacagaaguc 3300

cagacaggag gauucagcaa ggaaagcauc cugccgaaga gaaacagcga caagcugauc 3360

gcaagaaaga aggacuggga cccgaagaag uacggaggau ucgacagccc gacagucgca 3420

uacagcgucc uggucgucgc aaaggucgaa aagggaaaga gcaagaagcu gaagagcguc 3480

aaggaacugc ugggaaucac aaucauggaa agaagcagcu ucgaaaagaa cccgaucgac 3540

uuccuggaag caaagggaua caaggaaguc aagaaggacc ugaucaucaa gcugccgaag 3600

uacagccugu ucgaacugga aaacggaaga aagagaaugc uggcaagcgc aggagaacug 3660

cagaagggaa acgaacuggc acugccgagc aaguacguca acuuccugua ccuggcaagc 3720

cacuacgaaa agcugaaggg aagcccggaa gacaacgaac agaagcagcu guucgucgaa 3780

cagcacaagc acuaccugga cgaaaucauc gaacagauca gcgaauucag caagagaguc 3840

auccuggcag acgcaaaccu ggacaagguc cugagcgcau acaacaagca cagagacaag 3900

ccgaucagag aacaggcaga aaacaucauc caccuguuca cacugacaaa ccugggagca 3960

ccggcagcau ucaaguacuu cgacacaaca aucgacagaa agagauacac aagcacaaag 4020

gaaguccugg acgcaacacu gauccaccag agcaucacag gacuguacga aacaagaauc 4080

gaccugagcc agcugggagg agacuag 4107

<210> 503
<211> 4101
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 503
gacaagaagu acagcaucgg acuggacauc ggaacaaaca gcgucggaug ggcagucauc 60

acagacgaau acaaggcccc gagcaagaag uucaaggucc ugggaaacac agacagacac 120

agcaucaaga agaaccugau cggagcacug cuguucgaca gcggagaaac agcagaagca 180

acaagacuga agagaacagc aagaagaaga uacacaagaa gaaagaacag aaucugcuac 240

cugcaggaaa ucuucagcaa cgaaauggca aaggucgacg acagcuucuu ccacagacug 300

gaagaaagcu uccuggucga agaagacaag aagcacgaaa gacacccgau cuucggaaac 360

aucgucgacg aagucgcaua ccacgaaaag uacccgacaa ucuaccaccu gagaaagaag 420

cuggucgaca gcacagacaa ggcagaccug agacugaucu accuggcacu ggcacacaug 480

aucaaguuca gaggacacuu ccugaucgaa ggagaccuga acccggacaa cagcgacguc 540

gacaagcugu ucauccagcu gguccagaca uacaaccagc uguucgaaga aaacccgauc 600

aacgcaagcg gagucgacgc aaaggcaauc cugagcgcaa gacugagcaa gagcagaaga 660

cuggaaaacc ugaucgcaca gcugccggga gaaaagaaga acggacuguu cggaaaccug 720

aucgcacuga gccugggacu gacaccgaac uucaagagca acuucgaccu ggcagaagac 780

gcaaagcugc agcugagcaa ggacacauac gacgacgacc uggacaaccu gcuggcacag 840

aucggagacc aguacgcaga ccuguuccug gcagcaaaga accugagcga cgcaauccug 900

cugagcgaca uccugagagu caacacagaa aucacaaagg caccgcugag cgcaagcaug 960

aucaagagau acgacgaaca ccaccaggac cugacacugc ugaaggcacu ggucagacag 1020

cagcugccgg aaaaguacaa ggaaaucuuc uucgaccaga gcaagaacgg auacgcagga 1080

uacaucgacg gaggagcaag ccaggaagaa uucuacaagu ucaucaagcc gauccuggaa 1140

aagauggacg gaacagaaga acugcugguc aagcugaaca gagaagaccu gcugagaaag 1200

cagagaacau ucgacaacgg aagcaucccg caccagaucc accugggaga acugcacgca 1260

auccugagaa gacaggaaga cuucuacccg uuccugaagg acaacagaga aaagaucgaa 1320

aagauccuga cauucagaau cccguacuac gucggaccgc uggcaagagg aaacagcaga 1380

uucgcaugga ugacaagaaa gagcgaagaa acaaucacac cguggaacuu cgaagaaguc 1440

gucgacaagg gagcaagcgc acagagcuuc aucgaaagaa ugacaaacuu cgacaagaac 1500

cugccgaacg aaaagguccu gccgaagcac agccugcugu acgaauacuu cacagucuac 1560

aacgaacuga caaaggucaa guacgucaca gaaggaauga gaaagccggc auuccugagc 1620

ggagaacaga agaaggcaau cgucgaccug cuguucaaga caaacagaaa ggucacaguc 1680

aagcagcuga aggaagacua cuucaagaag aucgaaugcu ucgacagcgu cgaaaucagc 1740

ggagucgaag acagauucaa cgcaagccug ggaacauacc acgaccugcu gaagaucauc 1800

aaggacaagg acuuccugga caacgaagaa aacgaagaca uccuggaaga caucguccug 1860

acacugacac uguucgaaga cagagaaaug aucgaagaaa gacugaagac auacgcacac 1920

cuguucgacg acaaggucau gaagcagcug aagagaagaa gauacacagg auggggaaga 1980

cugagcagaa agcugaucaa cggaaucaga gacaagcaga gcggaaagac aauccuggac 2040

uuccugaaga gcgacggauu cgcaaacaga aacuucaugc agcugaucca cgacgacagc 2100

cugacauuca aggaagacau ccagaaggca caggucagcg gacagggaga cagccugcac 2160

gaacacaucg caaaccuggc aggaagcccg gcaaucaaga agggaauccu gcagacaguc 2220

aaggucgucg acgaacuggu caaggucaug ggaagacaca agccggaaaa caucgucauc 2280

gaaauggcaa gagaaaacca gacaacacag aagggacaga agaacagcag agaaagaaug 2340

aagagaaucg aagaaggaau caaggaacug ggaagccaga uccugaagga acacccgguc 2400

gaaaacacac agcugcagaa cgaaaagcug uaccuguacu accugcagaa cggaagagac 2460

auguacgucg accaggaacu ggacaucaac agacugagcg acuacgacgu cgaccacauc 2520

gucccgcaga gcuuccugaa ggacgacagc aucgacaaca agguccugac aagaagcgac 2580

aagaacagag gaaagagcga caacgucccg agcgaagaag ucgucaagaa gaugaagaac 2640

uacuggagac agcugcugaa cgcaaagcug aucacacaga gaaaguucga caaccugaca 2700

aaggcagaga gaggaggacu gagcgaacug gacaaggcag gauucaucaa gagacagcug 2760

gucgaaacaa gacagaucac aaagcacguc gcacagaucc uggacagcag aaugaacaca 2820

aaguacgacg aaaacgacaa gcugaucaga gaagucaagg ucaucacacu gaagagcaag 2880

cuggucagcg acuucagaaa ggacuuccag uucuacaagg ucagagaaau caacaacuac 2940

caccacgcac acgacgcaua ccugaacgca gucgucggaa cagcacugau caagaaguac 3000

ccgaagcugg aaagcgaauu cgucuacgga gacuacaagg ucuacgacgu cagaaagaug 3060

aucgcaaaga gcgaacagga aaucggaaag gcaacagcaa aguacuucuu cuacagcaac 3120

aucaugaacu ucuucaagac agaaaucaca cuggcaaacg gagaaaucag aaagagaccg 3180

cugaucgaaa caaacggaga aacaggagaa aucgucuggg acaagggaag agacuucgca 3240

acagucagaa agguccugag caugccgcag gucaacaucg ucaagaagac agaaguccag 3300

acaggaggau ucagcaagga aagcauccug ccgaagagaa acagcgacaa gcugaucgca 3360

agaaagaagg acugggaccc gaagaaguac ggaggauucg acagcccgac agucgcauac 3420

agcguccugg ucgucgcaaa ggucgaaaag ggaaagagca agaagcugaa gagcgucaag 3480

gaacugcugg gaaucacaau cauggaaaga agcagcuucg aaaagaaccc gaucgacuuc 3540

cuggaagcaa agggauacaa ggaagucaag aaggaccuga ucaucaagcu gccgaaguac 3600

agccuguucg aacuggaaaa cggaagaaag agaaugcugg caagcgcagg agaacugcag 3660

aagggaaacg aacuggcacu gccgagcaag uacgucaacu uccuguaccu ggcaagccac 3720

uacgaaaagc ugaagggaag cccggaagac aacgaacaga agcagcuguu cgucgaacag 3780

cacaagcacu accuggacga aaucaucgaa cagaucagcg aauucagcaa gagagucauc 3840

cuggcagacg caaaccugga caagguccug agcgcauaca acaagcacag agacaagccg 3900

aucagagaac aggcagaaaa caucauccac cuguucacac ugacaaaccu gggagcaccg 3960

gcagcauuca aguacuucga cacaacaauc gacagaaaga gauacacaag cacaaaggaa 4020

guccuggacg caacacugau ccaccagagc aucacaggac uguacgaaac aagaaucgac 4080

cugagccagc ugggaggaga c 4101

<210> 504
<211> 4179
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 504
auggacaaga aguacagcau cggacuggac aucggaacaa acagcgucgg augggcaguc 60

aucacagacg aauacaaggu cccgagcaag aaguucaagg uccugggaaa cacagacaga 120

cacagcauca agaagaaccu gaucggagca cugcuguucg acagcggaga aacagcagaa 180

gcaacaagac ugaagagaac agcaagaaga agauacacaa gaagaaagaa cagaaucugc 240

uaccugcagg aaaucuucag caacgaaaug gcaaaggucg acgacagcuu cuuccacaga 300

cuggaagaaa gcuuccuggu cgaagaagac aagaagcacg aaagacaccc gaucuucgga 360

aacaucgucg acgaagucgc auaccacgaa aaguacccga caaucuacca ccugagaaag 420

aagcuggucg acagcacaga caaggcagac cugagacuga ucuaccuggc acuggcacac 480

augaucaagu ucagaggaca cuuccugauc gaaggagacc ugaacccgga caacagcgac 540

gucgacaagc uguucaucca gcugguccag acauacaacc agcuguucga agaaaacccg 600

aucaacgcaa gcggagucga cgcaaaggca auccugagcg caagacugag caagagcaga 660

agacuggaaa accugaucgc acagcugccg ggagaaaaga agaacggacu guucggaaac 720

cugaucgcac ugagccuggg acugacaccg aacuucaaga gcaacuucga ccuggcagaa 780

gacgcaaagc ugcagcugag caaggacaca uacgacgacg accuggacaa ccugcuggca 840

cagaucggag accaguacgc agaccuguuc cuggcagcaa agaaccugag cgacgcaauc 900

cugcugagcg acauccugag agucaacaca gaaaucacaa aggcaccgcu gagcgcaagc 960

augaucaaga gauacgacga acaccaccag gaccugacac ugcugaaggc acuggucaga 1020

cagcagcugc cggaaaagua caaggaaauc uucuucgacc agagcaagaa cggauacgca 1080

ggauacaucg acggaggagc aagccaggaa gaauucuaca aguucaucaa gccgauccug 1140

gaaaagaugg acggaacaga agaacugcug gucaagcuga acagagaaga ccugcugaga 1200

aagcagagaa cauucgacaa cggaagcauc ccgcaccaga uccaccuggg agaacugcac 1260

gcaauccuga gaagacagga agacuucuac ccguuccuga aggacaacag agaaaagauc 1320

gaaaagaucc ugacauucag aaucccguac uacgucggac cgcuggcaag aggaaacagc 1380

agauucgcau ggaugacaag aaagagcgaa gaaacaauca caccguggaa cuucgaagaa 1440

gucgucgaca agggagcaag cgcacagagc uucaucgaaa gaaugacaaa cuucgacaag 1500

aaccugccga acgaaaaggu ccugccgaag cacagccugc uguacgaaua cuucacaguc 1560

uacaacgaac ugacaaaggu caaguacguc acagaaggaa ugagaaagcc ggcauuccug 1620

agcggagaac agaagaaggc aaucgucgac cugcuguuca agacaaacag aaaggucaca 1680

gucaagcagc ugaaggaaga cuacuucaag aagaucgaau gcuucgacag cgucgaaauc 1740

agcggagucg aagacagauu caacgcaagc cugggaacau accacgaccu gcugaagauc 1800

aucaaggaca aggacuuccu ggacaacgaa gaaaacgaag acauccugga agacaucguc 1860

cugacacuga cacuguucga agacagagaa augaucgaag aaagacugaa gacauacgca 1920

caccuguucg acgacaaggu caugaagcag cugaagagaa gaagauacac aggaugggga 1980

agacugagca gaaagcugau caacggaauc agagacaagc agagcggaaa gacaauccug 2040

gacuuccuga agagcgacgg auucgcaaac agaaacuuca ugcagcugau ccacgacgac 2100

agccugacau ucaaggaaga cauccagaag gcacagguca gcggacaggg agacagccug 2160

cacgaacaca ucgcaaaccu ggcaggaagc ccggcaauca agaagggaau ccugcagaca 2220

gucaaggucg ucgacgaacu ggucaagguc augggaagac acaagccgga aaacaucguc 2280

aucgaaaugg caagagaaaa ccagacaaca cagaagggac agaagaacag cagagaaaga 2340

augaagagaa ucgaagaagg aaucaaggaa cugggaagcc agauccugaa ggaacacccg 2400

gucgaaaaca cacagcugca gaacgaaaag cuguaccugu acuaccugca gaacggaaga 2460

gacauguacg ucgaccagga acuggacauc aacagacuga gcgacuacga cgucgaccac 2520

aucgucccgc agagcuuccu gaaggacgac agcaucgaca acaagguccu gacaagaagc 2580

gacaagaaca gaggaaagag cgacaacguc ccgagcgaag aagucgucaa gaagaugaag 2640

aacuacugga gacagcugcu gaacgcaaag cugaucacac agagaaaguu cgacaaccug 2700

acaaaggcag agagaggagg acugagcgaa cuggacaagg caggauucau caagagacag 2760

cuggucgaaa caagacagau cacaaagcac gucgcacaga uccuggacag cagaaugaac 2820

acaaaguacg acgaaaacga caagcugauc agagaaguca aggucaucac acugaagagc 2880

aagcugguca gcgacuucag aaaggacuuc caguucuaca aggucagaga aaucaacaac 2940

uaccaccacg cacacgacgc auaccugaac gcagucgucg gaacagcacu gaucaagaag 3000

uacccgaagc uggaaagcga auucgucuac ggagacuaca aggucuacga cgucagaaag 3060

augaucgcaa agagcgaaca ggaaaucgga aaggcaacag caaaguacuu cuucuacagc 3120

aacaucauga acuucuucaa gacagaaauc acacuggcaa acggagaaau cagaaagaga 3180

ccgcugaucg aaacaaacgg agaaacagga gaaaucgucu gggacaaggg aagagacuuc 3240

gcaacaguca gaaaggcccu gagcaugccg caggucaaca ucgucaagaa gacagaaguc 3300

cagacaggag gauucagcaa ggaaagcauc cugccgaaga gaaacagcga caagcugauc 3360

gcaagaaaga aggacuggga cccgaagaag uacggaggau ucgacagccc gacagucgca 3420

uacagcgucc uggucgucgc aaaggucgaa aagggaaaga gcaagaagcu gaagagcguc 3480

aaggaacugc ugggaaucac aaucauggaa agaagcagcu ucgaaaagaa cccgaucgac 3540

uuccuggaag caaagggaua caaggaaguc aagaaggacc ugaucaucaa gcugccgaag 3600

uacagccugu ucgaacugga aaacggaaga aagagaaugc uggcaagcgc aggagaacug 3660

cagaagggaa acgaacuggc acugccgagc aaguacguca acuuccugua ccuggcaagc 3720

cacuacgaaa agcugaaggg aagcccggaa gacaacgaac agaagcagcu guucgucgaa 3780

cagcacaagc acuaccugga cgaaaucauc gaacagauca gcgaauucag caagagaguc 3840

auccuggcag acgcaaaccu ggacaagguc cugagcgcau acaacaagca cagagacaag 3900

ccgaucagag aacaggcaga aaacaucauc caccuguuca cacugacaaa ccugggagca 3960

ccggcagcau ucaaguacuu cgacacaaca aucgacagaa agagauacac aagcacaaag 4020

gaaguccugg acgcaacacu gauccaccag agcaucacag gacuguacga aacaagaauc 4080

gaccugagcc agcugggagg agacggaagc ggaagcccga agaagaagag aaaggucgac 4140

ggaagcccga agaagaagag aaaggucgac agcggauag 4179

<210> 505
<211> 4173
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 505
gacaagaagu acagcaucgg acuggacauc ggaacaaaca gcgucggaug ggcagucauc 60

acagacgaau acaaggcccc gagcaagaag uucaaggucc ugggaaacac agacagacac 120

agcaucaaga agaaccugau cggagcacug cuguucgaca gcggagaaac agcagaagca 180

acaagacuga agagaacagc aagaagaaga uacacaagaa gaaagaacag aaucugcuac 240

cugcaggaaa ucuucagcaa cgaaauggca aaggucgacg acagcuucuu ccacagacug 300

gaagaaagcu uccuggucga agaagacaag aagcacgaaa gacacccgau cuucggaaac 360

aucgucgacg aagucgcaua ccacgaaaag uacccgacaa ucuaccaccu gagaaagaag 420

cuggucgaca gcacagacaa ggcagaccug agacugaucu accuggcacu ggcacacaug 480

aucaaguuca gaggacacuu ccugaucgaa ggagaccuga acccggacaa cagcgacguc 540

gacaagcugu ucauccagcu gguccagaca uacaaccagc uguucgaaga aaacccgauc 600

aacgcaagcg gagucgacgc aaaggcaauc cugagcgcaa gacugagcaa gagcagaaga 660

cuggaaaacc ugaucgcaca gcugccggga gaaaagaaga acggacuguu cggaaaccug 720

aucgcacuga gccugggacu gacaccgaac uucaagagca acuucgaccu ggcagaagac 780

gcaaagcugc agcugagcaa ggacacauac gacgacgacc uggacaaccu gcuggcacag 840

aucggagacc aguacgcaga ccuguuccug gcagcaaaga accugagcga cgcaauccug 900

cugagcgaca uccugagagu caacacagaa aucacaaagg caccgcugag cgcaagcaug 960

aucaagagau acgacgaaca ccaccaggac cugacacugc ugaaggcacu ggucagacag 1020

cagcugccgg aaaaguacaa ggaaaucuuc uucgaccaga gcaagaacgg auacgcagga 1080

uacaucgacg gaggagcaag ccaggaagaa uucuacaagu ucaucaagcc gauccuggaa 1140

aagauggacg gaacagaaga acugcugguc aagcugaaca gagaagaccu gcugagaaag 1200

cagagaacau ucgacaacgg aagcaucccg caccagaucc accugggaga acugcacgca 1260

auccugagaa gacaggaaga cuucuacccg uuccugaagg acaacagaga aaagaucgaa 1320

aagauccuga cauucagaau cccguacuac gucggaccgc uggcaagagg aaacagcaga 1380

uucgcaugga ugacaagaaa gagcgaagaa acaaucacac cguggaacuu cgaagaaguc 1440

gucgacaagg gagcaagcgc acagagcuuc aucgaaagaa ugacaaacuu cgacaagaac 1500

cugccgaacg aaaagguccu gccgaagcac agccugcugu acgaauacuu cacagucuac 1560

aacgaacuga caaaggucaa guacgucaca gaaggaauga gaaagccggc auuccugagc 1620

ggagaacaga agaaggcaau cgucgaccug cuguucaaga caaacagaaa ggucacaguc 1680

aagcagcuga aggaagacua cuucaagaag aucgaaugcu ucgacagcgu cgaaaucagc 1740

ggagucgaag acagauucaa cgcaagccug ggaacauacc acgaccugcu gaagaucauc 1800

aaggacaagg acuuccugga caacgaagaa aacgaagaca uccuggaaga caucguccug 1860

acacugacac uguucgaaga cagagaaaug aucgaagaaa gacugaagac auacgcacac 1920

cuguucgacg acaaggucau gaagcagcug aagagaagaa gauacacagg auggggaaga 1980

cugagcagaa agcugaucaa cggaaucaga gacaagcaga gcggaaagac aauccuggac 2040

uuccugaaga gcgacggauu cgcaaacaga aacuucaugc agcugaucca cgacgacagc 2100

cugacauuca aggaagacau ccagaaggca caggucagcg gacagggaga cagccugcac 2160

gaacacaucg caaaccuggc aggaagcccg gcaaucaaga agggaauccu gcagacaguc 2220

aaggucgucg acgaacuggu caaggucaug ggaagacaca agccggaaaa caucgucauc 2280

gaaauggcaa gagaaaacca gacaacacag aagggacaga agaacagcag agaaagaaug 2340

aagagaaucg aagaaggaau caaggaacug ggaagccaga uccugaagga acacccgguc 2400

gaaaacacac agcugcagaa cgaaaagcug uaccuguacu accugcagaa cggaagagac 2460

auguacgucg accaggaacu ggacaucaac agacugagcg acuacgacgu cgaccacauc 2520

gucccgcaga gcuuccugaa ggacgacagc aucgacaaca agguccugac aagaagcgac 2580

aagaacagag gaaagagcga caacgucccg agcgaagaag ucgucaagaa gaugaagaac 2640

uacuggagac agcugcugaa cgcaaagcug aucacacaga gaaaguucga caaccugaca 2700

aaggcagaga gaggaggacu gagcgaacug gacaaggcag gauucaucaa gagacagcug 2760

gucgaaacaa gacagaucac aaagcacguc gcacagaucc uggacagcag aaugaacaca 2820

aaguacgacg aaaacgacaa gcugaucaga gaagucaagg ucaucacacu gaagagcaag 2880

cuggucagcg acuucagaaa ggacuuccag uucuacaagg ucagagaaau caacaacuac 2940

caccacgcac acgacgcaua ccugaacgca gucgucggaa cagcacugau caagaaguac 3000

ccgaagcugg aaagcgaauu cgucuacgga gacuacaagg ucuacgacgu cagaaagaug 3060

aucgcaaaga gcgaacagga aaucggaaag gcaacagcaa aguacuucuu cuacagcaac 3120

aucaugaacu ucuucaagac agaaaucaca cuggcaaacg gagaaaucag aaagagaccg 3180

cugaucgaaa caaacggaga aacaggagaa aucgucuggg acaagggaag agacuucgca 3240

acagucagaa agguccugag caugccgcag gucaacaucg ucaagaagac agaaguccag 3300

acaggaggau ucagcaagga aagcauccug ccgaagagaa acagcgacaa gcugaucgca 3360

agaaagaagg acuggggaccc gaagaaguac ggaggauucg acagcccgac agucgcauac 3420

agcguccugg ucgucgcaaa ggucgaaaag ggaaagagca agaagcugaa gagcgucaag 3480

gaacugcugg gaaucacaau cauggaaaga agcagcuucg aaaagaaccc gaucgacuuc 3540

cuggaagcaa agggauacaa ggaagucaag aaggaccuga ucaucaagcu gccgaaguac 3600

agccuguucg aacuggaaaa cggaagaaag agaaugcugg caagcgcagg agaacugcag 3660

aagggaaacg aacuggcacu gccgagcaag uacgucaacu uccuguaccu ggcaagccac 3720

uacgaaaagc ugaagggaag cccggaagac aacgaacaga agcagcuguu cgucgaacag 3780

cacaagcacu accuggacga aaucaucgaa cagaucagcg aauucagcaa gagagucauc 3840

cuggcagacg caaaccugga caagguccug agcgcauaca acaagcacag agacaagccg 3900

aucagagaac aggcagaaaa caucauccac cuguucacac ugacaaaccu gggagcaccg 3960

gcagcauuca aguacuucga cacaacaauc gacagaaaga gauacacaag cacaaaggaa 4020

guccuggacg caacacugau ccaccagagc aucacaggac uguacgaaac aagaaucgac 4080

cugagccagc uggggaggaga cggaagcgga agcccgaaga agaagagaaa ggucgacgga 4140

agcccgaaga agaagagaaa ggucgacagc gga 4173

<210> 506
<211> 4405
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 506
gggtcccgca gtcggcgtcc agcggctctg cttgttcgtg tgtgtgtcgt tgcaggcctt 60

attcggatcc atggacaaga agtacagcat cggactggac atcggaacaa acagcgtcgg 120

atgggcagtc atcacagacg aatacaaggt cccgagcaag aagttcaagg tcctgggaaa 180

cacagacaga cacagcatca agaagaacct gatcggagca ctgctgttcg acagcggaga 240

aacagcagaa gcaacaagac tgaagagaac agcaagaaga agatacacaa gaagaaagaa 300

cagaatctgc tacctgcagg aaatcttcag caacgaaatg gcaaaggtcg acgacagctt 360

cttccacaga ctggaagaaa gcttcctggt cgaagaagac aagaagcacg aaagacaccc 420

gatcttcgga aacatcgtcg acgaagtcgc ataccacgaa aagtacccga caatctacca 480

cctgagaaag aagctggtcg acagcacaga caaggcagac ctgagactga tctacctggc 540

actggcacac atgatcaagt tcagaggaca cttcctgatc gaaggagacc tgaacccgga 600

caacagcgac gtcgacaagc tgttcatcca gctggtccag acatacaacc agctgttcga 660

agaaaacccg atcaacgcaa gcggagtcga cgcaaaggca atcctgagcg caagactgag 720

caagagcaga agactggaaa acctgatcgc acagctgccg ggagaaaaga agaacggact 780

gttcggaaac ctgatcgcac tgagcctggg actgacaccg aacttcaaga gcaacttcga 840

cctggcagaa gacgcaaagc tgcagctgag caaggacaca tacgacgacg acctggacaa 900

cctgctggca cagatcggag accagtacgc agacctgttc ctggcagcaa agaacctgag 960

cgacgcaatc ctgctgagcg acatcctgag agtcaacaca gaaatcacaa aggcaccgct 1020

gagcgcaagc atgatcaaga gatacgacga acaccaccag gacctgacac tgctgaaggc 1080

actggtcaga cagcagctgc cggaaaagta caaggaaatc ttcttcgacc agagcaagaa 1140

cggatacgca ggatacatcg acggaggagc aagccaggaa gaattctaca agttcatcaa 1200

gccgatcctg gaaaagatgg acggaacaga agaactgctg gtcaagctga acagagaaga 1260

cctgctgaga aagcagagaa cattcgacaa cggaagcatc ccgcaccaga tccacctggg 1320

agaactgcac gcaatcctga gaagacagga agacttctac ccgttcctga aggacaacag 1380

agaaaagatc gaaaagatcc tgacattcag aatcccgtac tacgtcggac cgctggcaag 1440

aggaaacagc agattcgcat ggatgacaag aaagagcgaa gaaacaatca caccgtggaa 1500

cttcgaagaa gtcgtcgaca agggagcaag cgcacagagc ttcatcgaaa gaatgacaaa 1560

cttcgacaag aacctgccga acgaaaaggt cctgccgaag cacagcctgc tgtacgaata 1620

cttcacagtc tacaacgaac tgacaaaggt caagtacgtc acagaaggaa tgagaaagcc 1680

ggcattcctg agcggagaac agaagaaggc aatcgtcgac ctgctgttca agacaaacag 1740

aaaggtcaca gtcaagcagc tgaaggaaga ctacttcaag aagatcgaat gcttcgacag 1800

cgtcgaaatc agcggagtcg aagacagatt caacgcaagc ctgggaacat accacgacct 1860

gctgaagatc atcaaggaca aggacttcct ggacaacgaa gaaaacgaag acatcctgga 1920

agacatcgtc ctgacactga cactgttcga agacagagaa atgatcgaag aaagactgaa 1980

gacatacgca cacctgttcg acgacaaggt catgaagcag ctgaagagaa gaagatacac 2040

aggatgggga agactgagca gaaagctgat caacggaatc agagacaagc agagcggaaa 2100

gacaatcctg gacttcctga agagcgacgg attcgcaaac agaaacttca tgcagctgat 2160

ccacgacgac agcctgacat tcaaggaaga catccagaag gcacaggtca gcggacaggg 2220

agacagcctg cacgaacaca tcgcaaacct ggcaggaagc ccggcaatca agaagggaat 2280

cctgcagaca gtcaaggtcg tcgacgaact ggtcaaggtc atgggaagac acaagccgga 2340

aaacatcgtc atcgaaatgg caagagaaaa ccagacaaca cagaagggac agaagaacag 2400

cagagaaaga atgaagagaa tcgaagaagg aatcaaggaa ctgggaagcc agatcctgaa 2460

ggaacacccg gtcgaaaaca cacagctgca gaacgaaaag ctgtacctgt actacctgca 2520

gaacggaaga gacatgtacg tcgaccagga actggacatc aacagactga gcgactacga 2580

cgtcgaccac atcgtcccgc agagcttcct gaaggacgac agcatcgaca acaaggtcct 2640

gacaagaagc gacaagaaca gaggaaagag cgacaacgtc ccgagcgaag aagtcgtcaa 2700

gaagatgaag aactactgga gacagctgct gaacgcaaag ctgatcacac agagaaagtt 2760

cgacaacctg acaaaggcag agagaggagg actgagcgaa ctggacaagg caggattcat 2820

caagagacag ctggtcgaaa caagacagat cacaaagcac gtcgcacaga tcctggacag 2880

cagaatgaac acaaagtacg acgaaaacga caagctgatc agagaagtca aggtcatcac 2940

actgaagagc aagctggtca gcgacttcag aaaggacttc cagttctaca aggtcagaga 3000

aatcaacaac taccaccacg cacacgacgc atacctgaac gcagtcgtcg gaacagcact 3060

gatcaagaag tacccgaagc tggaaagcga attcgtctac ggagactaca aggtctacga 3120

cgtcagaaag atgatcgcaa agagcgaaca ggaaatcgga aaggcaacag caaagtactt 3180

cttctacagc aacatcatga acttcttcaa gacagaaatc acactggcaa acggagaaat 3240

cagaaagaga ccgctgatcg aaacaaacgg agaaacagga gaaatcgtct gggacaaggg 3300

aagagacttc gcaacagtca gaaaggtcct gagcatgccg caggtcaaca tcgtcaagaa 3360

gacagaagtc cagacaggag gattcagcaa ggaaagcatc ctgccgaaga gaaacagcga 3420

caagctgatc gcaagaaaga aggactggga cccgaagaag tacggaggat tcgacagccc 3480

gacagtcgca tacagcgtcc tggtcgtcgc aaaggtcgaa aagggaaaga gcaagaagct 3540

gaagagcgtc aaggaactgc tgggaatcac aatcatggaa agaagcagct tcgaaaagaa 3600

cccgatcgac ttcctggaag caaagggata caaggaagtc aagaaggacc tgatcatcaa 3660

gctgccgaag tacagcctgt tcgaactgga aaacggaaga aagagaatgc tggcaagcgc 3720

aggagaactg cagaagggaa acgaactggc actgccgagc aagtacgtca acttcctgta 3780

cctggcaagc cactacgaaa agctgaaggg aagcccggaa gacaacgaac agaagcagct 3840

gttcgtcgaa cagcacaagc actacctgga cgaaatcatc gaacagatca gcgaattcag 3900

caagagagtc atcctggcag acgcaaacct ggacaaggtc ctgagcgcat acaacaagca 3960

cagagacaag ccgatcagag aacaggcaga aaacatcatc cacctgttca cactgacaaa 4020

cctgggagca ccggcagcat tcaagtactt cgacacaaca atcgacagaa agagatacac 4080

aagcacaaag gaagtcctgg acgcaacact gatccaccag agcatcacag gactgtacga 4140

aacaagaatc gacctgagcc agctgggagg agacggagga ggaagcccga agaagaagag 4200

aaaggtctag ctagccatca catttaaaag catctcagcc taccatgaga ataagagaaa 4260

gaaaatgaag atcaatagct tattcatctc ttttttcttt tcgttggtgt aaagccaaca 4320

ccctgtctaa aaaacataaa tttctttaat cattttgcct cttttctctg tgcttcaatt 4380

aataaaaaat ggaaagaacc tcgag 4405

<210> 507
<211> 4140
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 507

atggacaaga agtacagcat cggactggac atcggaacaa acagcgtcgg atgggcagtc 60

atcacagacg aatacaaggt cccgagcaag aagttcaagg tcctgggaaa cacagacaga 120

cacagcatca agaagaacct gatcggagca ctgctgttcg acagcggaga aacagcagaa 180

gcaacaagac tgaagagaac agcaagaaga agatacacaa gaagaaagaa cagaatctgc 240

tacctgcagg aaatcttcag caacgaaatg gcaaaggtcg acgacagctt cttccaccgg 300

ctggaagaaa gcttcctggt cgaagaagac aagaagcacg aaagacaccc gatcttcgga 360

aacatcgtcg acgaagtcgc ataccacgaa aagtacccga caatctacca cctgagaaag 420

aagctggtcg acagcacaga caaggcagac ctgagactga tctacctggc actggcacac 480

atgatcaagt tcagaggaca cttcctgatc gaaggagacc tgaacccgga caacagcgac 540

gtcgacaagc tgttcatcca gctggtccag acatacaacc agctgttcga agaaaacccg 600

atcaacgcaa gcggagtcga cgcaaaggca atcctgagcg caagactgag caagagcaga 660

agactggaaa acctgatcgc acagctgccg ggagaaaaga agaacggact gttcggaaac 720

ctgatcgcac tgagcctggg actgacaccg aacttcaaga gcaacttcga cctggcagaa 780

gacgcaaagc tgcagctgag caaggacaca tacgacgacg acctggacaa cctgctggca 840

cagatcggag accagtacgc agacctgttc ctggcagcaa agaacctgag cgacgcaatc 900

ctgctgagcg acatcctgag agtcaacaca gaaatcacaa aggcaccgct gagcgcaagc 960

atgatcaaga gatacgacga acaccaccag gacctgacac tgctgaaggc actggtcaga 1020

cagcagctgc cggaaaagta caaggaaatc ttcttcgacc agagcaagaa cggatacgca 1080

ggatacatcg acggaggagc aagccaggaa gaattctaca agttcatcaa gccgatcctg 1140

gaaaagatgg acggaacaga agaactgctg gtcaagctga acagagaaga cctgctgaga 1200

aagcagagaa cattcgacaa cggaagcatc ccgcaccaga tccacctggg agaactgcac 1260

gcaatcctga gaagacagga agacttctac ccgttcctga aggacaacag agaaaagatc 1320

gaaaagatcc tgacattcag aatcccgtac tacgtcggac cgctggcaag aggaaacagc 1380

agattcgcat ggatgacaag aaagagcgaa gaaacaatca caccgtggaa cttcgaagaa 1440

gtcgtcgaca agggagcaag cgcacagagc ttcatcgaaa gaatgacaaa cttcgacaag 1500

aacctgccga acgaaaaggt cctgccgaag cacagcctgc tgtacgaata cttcacagtc 1560

tacaacgaac tgacaaaggt caagtacgtc acagaaggaa tgagaaagcc ggcattcctg 1620

agcggagaac agaagaaggc aatcgtcgac ctgctgttca agacaaacag aaaggtcaca 1680

gtcaagcagc tgaaggaaga ctacttcaag aagatcgaat gcttcgacag cgtcgaaatc 1740

agcggagtcg aagacagatt caacgcaagc ctgggaacat accacgacct gctgaagatc 1800

atcaaggaca aggacttcct ggacaacgaa gaaaacgaag acatcctgga agacatcgtc 1860

ctgacactga cactgttcga agacagagaa atgatcgaag aaagactgaa gacatacgca 1920

cacctgttcg acgacaaggt catgaagcag ctgaagagaa gaagatacac aggatgggga 1980

agactgagca gaaagctgat caacggaatc agagacaagc agagcggaaa gacaatcctg 2040

gacttcctga agagcgacgg attcgcaaac agaaacttca tgcagctgat ccacgacgac 2100

agcctgacat tcaaggaaga catccagaag gcacaggtca gcggacaggg agacagcctg 2160

cacgaacaca tcgcaaacct ggcaggaagc ccggcaatca agaagggaat cctgcagaca 2220

gtcaaggtcg tcgacgaact ggtcaaggtc atgggaagac acaagccgga aaacatcgtc 2280

atcgaaatgg caagagaaaa ccagacaaca cagaagggac agaagaacag cagagaaaga 2340

atgaagagaa tcgaagaagg aatcaaggaa ctgggaagcc agatcctgaa ggaacacccg 2400

gtcgaaaaca cacagctgca gaacgaaaag ctgtacctgt actacctgca aaacggaaga 2460

gacatgtacg tcgaccagga actggacatc aacagactga gcgactacga cgtcgaccac 2520

atcgtcccgc agagcttcct gaaggacgac agcatcgaca acaaggtcct gacaagaagc 2580

gacaagaaca gaggaaagag cgacaacgtc ccgagcgaag aagtcgtcaa gaagatgaag 2640

aactactgga gacagctgct gaacgcaaag ctgatcacac agagaaagtt cgacaacctg 2700

acaaaggcag agaggaggagg actgagcgaa ctggacaagg caggattcat caagagacag 2760

ctggtcgaaa caagacagat cacaaagcac gtcgcacaga tcctggacag cagaatgaac 2820

acaaagtacg acgaaaacga caagctgatc agagaagtca aggtcatcac actgaagagc 2880

aagctggtca gcgacttcag aaaggacttc cagttctaca aggtcagaga aatcaacaac 2940

taccaccacg cacacgacgc atacctgaac gcagtcgtcg gaacagcact gatcaagaag 3000

tacccgaagc tggaaagcga attcgtctac ggagactaca aggtctacga cgtcagaaag 3060

atgatcgcaa agagcgaaca ggaaatcgga aaggcaacag caaagtactt cttctacagc 3120

aacatcatga acttcttcaa gacagaaatc acactggcaa acggagaaat cagaaagaga 3180

ccgctgatcg aaacaaacgg agaaacagga gaaatcgtct gggacaaggg aagagacttc 3240

gcaacagtca gaaaggtcct gagcatgccg caggtcaaca tcgtcaagaa gacagaagtc 3300

cagacaggag gattcagcaa ggaaagcatc ctgccgaaga gaaacagcga caagctgatc 3360

gcaagaaaga aggactggga cccgaagaag tacggaggat tcgacagccc gacagtcgca 3420

tacagcgtcc tggtcgtcgc aaaggtcgaa aagggaaaga gcaagaagct gaagagcgtc 3480

aaggaactgc tgggaatcac aatcatggaa agaagcagct tcgaaaagaa cccgatcgac 3540

ttcctggaag caaagggata caaggaagtc aagaaggacc tgatcatcaa gctgccgaag 3600

tacagcctgt tcgaactgga aaacggaaga aagagaatgc tggcaagcgc aggagaactg 3660

cagaagggaa acgaactggc actgccgagc aagtacgtca acttcctgta cctggcaagc 3720

cactacgaaa agctgaaggg aagcccggaa gacaacgaac agaagcagct gttcgtcgaa 3780

cagcacaagc actacctgga cgaaatcatc gaacagatca gcgaattcag caagagagtc 3840

atcctggcag acgcaaacct ggacaaggtc ctgagcgcat acaacaagca cagagacaag 3900

ccgatcagag aacaggcaga aaacatcatc cacctgttca cactgacaaa cctgggagca 3960

ccggcagcat tcaagtactt cgacacaaca atcgacagaa agagatacac aagcacaaag 4020

gaagtcctgg acgcaacact gatccaccag agcatcacag gactgtacga aacaagaatc 4080

gacctgagcc agctgggagg agacggagga ggaagcccga agaagaagag aaaggtctag 4140

<210> 508
<211> 4140
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 508

atggacaaga agtacagcat cggcctggac atcggcacca acagcgtggg ctgggccgtg 60

atcaccgacg agtacaaggt gcccagcaag aagttcaagg tgctgggcaa caccgacaga 120

cacagcatca agaagaacct gatcggcgcc ctgctgttcg acagcggcga gaccgccgag 180

gccaccagac tgaagagaac cgccagaaga agatacacca gaagaaagaa cagaatctgc 240

tacctgcagg agatcttcag caacgagatg gccaaggtgg acgacagctt cttccacaga 300

ctggaggaga gcttcctggt ggaggaggac aagaagcacg agagacaccc catcttcggc 360

aacatcgtgg acgaggtggc ctaccacgag aagtacccca ccatctacca cctgagaaag 420

aagctggtgg acagcaccga caaggccgac ctgagactga tctacctggc cctggcccac 480

atgatcaagt tcagaggcca cttcctgatc gagggcgacc tgaaccccga caacagcgac 540

gtggacaagc tgttcatcca gctggtgcag acctacaacc agctgttcga ggagaacccc 600

atcaacgcca gcggcgtgga cgccaaggcc atcctgagcg ccagactgag caagagcaga 660

agactggaga acctgatcgc ccagctgccc ggcgagaaga agaacggcct gttcggcaac 720

ctgatcgccc tgagcctggg cctgaccccc aacttcaaga gcaacttcga cctggccgag 780

gacgccaagc tgcagctgag caaggacacc tacgacgacg acctggacaa cctgctggcc 840

cagatcggcg accagtacgc cgacctgttc ctggccgcca agaacctgag cgacgccatc 900

ctgctgagcg acatcctgag agtgaacacc gagatcacca aggcccccct gagcgccagc 960

atgatcaaga gatacgacga gcaccaccag gacctgaccc tgctgaaggc cctggtgaga 1020

cagcagctgc ccgagaagta caaggagatc ttcttcgacc agagcaagaa cggctacgcc 1080

ggctacatcg acggcggcgc cagccaggag gagttctaca agttcatcaa gcccatcctg 1140

gagaagatgg acggcaccga ggagctgctg gtgaagctga acagagagga cctgctgaga 1200

aagcagagaa ccttcgacaa cggcagcatc ccccaccaga tccacctggg cgagctgcac 1260

gccatcctga gaagacagga ggacttctac cccttcctga aggacaacag agagaagatc 1320

gagaagatcc tgaccttcag aatcccctac tacgtgggcc ccctggccag aggcaacagc 1380

agattcgcct ggatgaccag aaagagcgag gagaccatca ccccctggaa cttcgaggag 1440

gtggtggaca agggcgccag cgcccagagc ttcatcgaga gaatgaccaa cttcgacaag 1500

aacctgccca acgagaaggt gctgcccaag cacagcctgc tgtacgagta cttcaccgtg 1560

tacaacgagc tgaccaaggt gaagtacgtg accgagggca tgagaaagcc cgccttcctg 1620

agcggcgagc agaagaaggc catcgtggac ctgctgttca agaccaacag aaaggtgacc 1680

gtgaagcagc tgaaggagga ctacttcaag aagatcgagt gcttcgacag cgtggagatc 1740

agcggcgtgg aggacagatt caacgccagc ctgggcacct accacgacct gctgaagatc 1800

atcaaggaca aggacttcct ggacaacgag gagaacgagg acatcctgga ggacatcgtg 1860

ctgaccctga ccctgttcga ggacagagag atgatcgagg agagactgaa gacctacgcc 1920

cacctgttcg acgacaaggt gatgaagcag ctgaagagaa gaagatacac cggctggggc 1980

agactgagca gaaagctgat caacggcatc agagacaagc agagcggcaa gaccatcctg 2040

gacttcctga agagcgacgg cttcgccaac agaaacttca tgcagctgat ccacgacgac 2100

agcctgacct tcaaggagga catccagaag gcccaggtga gcggccaggg cgacagcctg 2160

cacgagcaca tcgccaacct ggccggcagc cccgccatca agaagggcat cctgcagacc 2220

gtgaaggtgg tggacgagct ggtgaaggtg atgggcagac acaagcccga gaacatcgtg 2280

atcgagatgg ccagagagaa ccagaccacc cagaagggcc agaagaacag cagagagaga 2340

atgaagagaa tcgaggaggg catcaaggag ctgggcagcc agatcctgaa ggagcacccc 2400

gtggagaaca cccagctgca gaacgagaag ctgtacctgt actacctgca gaacggcaga 2460

gacatgtacg tggaccagga gctggacatc aacagactga gcgactacga cgtggaccac 2520

atcgtgcccc agagcttcct gaaggacgac agcatcgaca acaaggtgct gaccagaagc 2580

gacaagaaca gaggcaagag cgacaacgtg cccagcgagg aggtggtgaa gaagatgaag 2640

aactactgga gacagctgct gaacgccaag ctgatcaccc agagaaagtt cgacaacctg 2700

accaaggccg agagaggcgg cctgagcgag ctggacaagg ccggcttcat caagagacag 2760

ctggtggaga ccagacagat caccaagcac gtggcccaga tcctggacag cagaatgaac 2820

accaagtacg acgagaacga caagctgatc agagaggtga aggtgatcac cctgaagagc 2880

aagctggtga gcgacttcag aaaggacttc cagttctaca aggtgagaga gatcaacaac 2940

taccaccacg cccacgacgc ctacctgaac gccgtggtgg gcaccgccct gatcaagaag 3000

taccccaagc tggagagcga gttcgtgtac ggcgactaca aggtgtacga cgtgagaaag 3060

atgatcgcca agagcgagca ggagatcggc aaggccaccg ccaagtactt cttctacagc 3120

aacatcatga acttcttcaa gaccgagatc accctggcca acggcgagat cagaaagaga 3180

cccctgatcg agaccaacgg cgagaccggc gagatcgtgt gggacaaggg cagagacttc 3240

gccaccgtga gaaaggtgct gagcatgccc caggtgaaca tcgtgaagaa gaccgaggtg 3300

cagaccggcg gcttcagcaa ggagagcatc ctgcccaaga gaaacagcga caagctgatc 3360

gccagaaaga aggactggga ccccaagaag tacggcggct tcgacagccc caccgtggcc 3420

tacagcgtgc tggtggtggc caaggtggag aagggcaaga gcaagaagct gaagagcgtg 3480

aaggagctgc tgggcatcac catcatggag agaagcagct tcgagaagaa ccccatcgac 3540

ttcctggagg ccaagggcta caaggaggtg aagaaggacc tgatcatcaa gctgcccaag 3600

tacagcctgt tcgagctgga gaacggcaga aagagaatgc tggccagcgc cggcgagctg 3660

cagaagggca acgagctggc cctgcccagc aagtacgtga acttcctgta cctggccagc 3720

cactacgaga agctgaaggg cagccccgag gacaacgagc agaagcagct gttcgtggag 3780

cagcacaagc actacctgga cgagatcatc gagcagatca gcgagttcag caagagagtg 3840

atcctggccg acgccaacct ggacaaggtg ctgagcgcct acaacaagca cagagacaag 3900

cccatcagag agcaggccga gaacatcatc cacctgttca ccctgaccaa cctgggcgcc 3960

cccgccgcct tcaagtactt cgacaccacc atcgacagaa agagatacac cagcaccaag 4020

gaggtgctgg acgccaccct gatccaccag agcatcaccg gcctgtacga gaccagaatc 4080

gacctgagcc agctgggcgg cgacggcggc ggcagcccca agaagaagag aaaggtgtga 4140

<210> 509
<211> 4411
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 509
gggtcccgca gtcggcgtcc agcggctctg cttgttcgtg tgtgtgtcgt tgcaggcctt 60

attcggatcc gccaccatgg acaagaagta cagcatcggc ctggacatcg gcaccaacag 120

cgtgggctgg gccgtgatca ccgacgagta caaggtgccc agcaagaagt tcaaggtgct 180

gggcaacacc gacagacaca gcatcaagaa gaacctgatc ggcgccctgc tgttcgacag 240

cggcgagacc gccgaggcca ccagactgaa gagaaccgcc agaagaagat acaccagaag 300

aaagaacaga atctgctacc tgcaggagat cttcagcaac gagatggcca aggtggacga 360

cagcttcttc cacagactgg aggagagctt cctggtggag gaggacaaga agcacgagag 420

acaccccatc ttcggcaaca tcgtggacga ggtggcctac cacgagaagt accccaccat 480

ctaccacctg agaaagaagc tggtggacag caccgacaag gccgacctga gactgatcta 540

cctggccctg gcccacatga tcaagttcag aggccacttc ctgatcgagg gcgacctgaa 600

ccccgacaac agcgacgtgg acaagctgtt catccagctg gtgcagacct acaaccagct 660

gttcgaggag aaccccatca acgccagcgg cgtggacgcc aaggccatcc tgagcgccag 720

actgagcaag agcagaagac tggagaacct gatcgcccag ctgccccggcg agaagaagaa 780

cggcctgttc ggcaacctga tcgccctgag cctgggcctg acccccaact tcaagagcaa 840

cttcgacctg gccgaggacg ccaagctgca gctgagcaag gacacctacg acgacgacct 900

ggacaacctg ctggcccaga tcggcgacca gtacgccgac ctgttcctgg ccgccaagaa 960

cctgagcgac gccatcctgc tgagcgacat cctgagagtg aacaccgaga tcaccaaggc 1020

ccccctgagc gccagcatga tcaagagata cgacgagcac caccaggacc tgaccctgct 1080

gaaggccctg gtgagacagc agctgcccga gaagtacaag gagatcttct tcgaccagag 1140

caagaacggc tacgccggct acatcgacgg cggcgccagc caggaggagt tctacaagtt 1200

catcaagccc atcctggaga agatggacgg caccgaggag ctgctggtga agctgaacag 1260

agaggacctg ctgagaaagc agagaacctt cgacaacggc agcatccccc accagatcca 1320

cctgggcgag ctgcacgcca tcctgagaag acaggaggac ttctaccct tcctgaagga 1380

caacagagag aagatcgaga agatcctgac cttcagaatc ccctactacg tgggccccct 1440

ggccagaggc aacagcagat tcgcctggat gaccagaaag agcgaggaga ccatcacccc 1500

ctggaacttc gaggaggtgg tggacaaggg cgccagcgcc cagagcttca tcgagagaat 1560

gaccaacttc gacaagaacc tgcccaacga gaaggtgctg cccaagcaca gcctgctgta 1620

cgagtacttc accgtgtaca acgagctgac caaggtgaag tacgtgaccg agggcatgag 1680

aaagcccgcc ttcctgagcg gcgagcagaa gaaggccatc gtggacctgc tgttcaagac 1740

caacagaaag gtgaccgtga agcagctgaa ggaggactac ttcaagaaga tcgagtgctt 1800

cgacagcgtg gagatcagcg gcgtggagga cagattcaac gccagcctgg gcacctacca 1860

cgacctgctg aagatcatca aggacaagga cttcctggac aacgaggaga acgaggacat 1920

cctggaggac atcgtgctga ccctgaccct gttcgaggac agagagatga tcgaggagag 1980

actgaagacc tacgcccacc tgttcgacga caaggtgatg aagcagctga agagaagaag 2040

atacaccggc tggggcagac tgagcagaaa gctgatcaac ggcatcagag acaagcagag 2100

cggcaagacc atcctggact tcctgaagag cgacggcttc gccaacagaa acttcatgca 2160

gctgatccac gacgacagcc tgaccttcaa ggaggacatc cagaaggccc aggtgagcgg 2220

ccagggcgac agcctgcacg agcacatcgc caacctggcc ggcagccccg ccatcaagaa 2280

gggcatcctg cagaccgtga aggtggtgga cgagctggtg aaggtgatgg gcagacacaa 2340

gcccgagaac atcgtgatcg agatggccag agagaaccag accacccaga agggccagaa 2400

gaacagcaga gagagaatga agagaatcga ggagggcatc aaggagctgg gcagccagat 2460

cctgaaggag caccccgtgg agaacaccca gctgcagaac gagaagctgt acctgtacta 2520

cctgcagaac ggcagagaca tgtacgtgga ccaggagctg gacatcaaca gactgagcga 2580

ctacgacgtg gaccacatcg tgccccagag cttcctgaag gacgacagca tcgacaacaa 2640

ggtgctgacc agaagcgaca agaacagagg caagagcgac aacgtgccca gcgaggaggt 2700

ggtgaagaag atgaagaact actggagaca gctgctgaac gccaagctga tcacccagag 2760

aaagttcgac aacctgacca aggccgagag aggcggcctg agcgagctgg acaaggccgg 2820

cttcatcaag agacagctgg tggagaccag acagatcacc aagcacgtgg cccagatcct 2880

ggacagcaga atgaacacca agtacgacga gaacgacaag ctgatcagag aggtgaaggt 2940

gatcaccctg aagagcaagc tggtgagcga cttcagaaag gacttccagt tctacaaggt 3000

gagagagatc aacaactacc accacgccca cgacgcctac ctgaacgccg tggtgggcac 3060

cgccctgatc aagaagtacc ccaagctgga gagcgagttc gtgtacggcg actacaaggt 3120

gtacgacgtg agaaagatga tcgccaagag cgagcaggag atcggcaagg ccaccgccaa 3180

gtacttcttc tacagcaaca tcatgaactt cttcaagacc gagatcaccc tggccaacgg 3240

cgagatcaga aagagacccc tgatcgagac caacggcgag accggcgaga tcgtgtggga 3300

caagggcaga gacttcgcca ccgtgagaaa ggtgctgagc atgccccagg tgaacatcgt 3360

gaagaagacc gaggtgcaga ccggcggctt cagcaaggag agcatcctgc ccaagagaaa 3420

cagcgacaag ctgatcgcca gaaagaagga ctgggacccc aagaagtacg gcggcttcga 3480

cagccccacc gtggcctaca gcgtgctggt ggtggccaag gtggagaagg gcaagagcaa 3540

gaagctgaag agcgtgaagg agctgctggg catcaccatc atggagagaa gcagcttcga 3600

gaagaacccc atcgacttcc tggaggccaa gggctacaag gaggtgaaga aggacctgat 3660

catcaagctg cccaagtaca gcctgttcga gctggagaac ggcagaaaga gaatgctggc 3720

cagcgccggc gagctgcaga agggcaacga gctggccctg cccagcaagt acgtgaactt 3780

cctgtacctg gccagccact acgagaagct gaagggcagc cccgaggaca acgagcagaa 3840

gcagctgttc gtggagcagc acaagcacta cctggacgag atcatcgagc agatcagcga 3900

gttcagcaag agagtgatcc tggccgacgc caacctggac aaggtgctga gcgcctacaa 3960

caagcacaga gacaagccca tcagagagca ggccgagaac atcatccacc tgttcaccct 4020

gaccaacctg ggcgccccca ccgccttcaa gtacttcgac accaccatcg acagaaagag 4080

atacaccagc accaaggagg tgctggacgc caccctgatc caccagagca tcaccggcct 4140

gtacgagacc agaatcgacc tgagccagct gggcggcgac ggcggcggca gccccaagaa 4200

gaagagaaag gtgtgactag ccatcacatt taaaagcatc tcagcctacc atgagaataa 4260

gagaaagaaa atgaagatca atagcttatt catctctttt tctttttcgt tggtgtaaag 4320

ccaacaccct gtctaaaaaa cataaatttc tttaatcatt ttgcctcttt tctctgtgct 4380

tcaattaata aaaaatggaa agaacctcga g 4411

<210> 510
<211> 4140
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 510
atggacaaga agtactctat cggtttggac atcggtacca actctgtcgg ttgggccgtc 60

atcaccgacg aatacaaggt cccatctaag aagttcaagg tcttgggtaa caccgacaga 120

cactctatca agaagaactt gatcggtgcc ttgttgttcg actctggtga aaccgccgaa 180

gccaccagat tgaagagaac cgccagaaga agatacacca gaagaaagaa cagaatctgc 240

tacttgcaag aaatcttctc taacgaaatg gccaaggtcg acgactcttt cttccacaga 300

ttggaagaat ctttcttggt cgaagaagac aagaagcacg aaagacaccc aatcttcggt 360

aacatcgtcg acgaagtcgc ctaccacgaa aagtacccaa ccatctacca cttgagaaag 420

aagttggtcg actctaccga caaggccgac ttgagattga tctacttggc cttggcccac 480

atgatcaagt tcagaggtca cttcttgatc gaaggtgact tgaacccaga caactctgac 540

gtcgacaagt tgttcatcca attggtccaa acctacaacc aattgttcga agaaaaccca 600

atcaacgcct ctggtgtcga cgccaaggcc atcttgtctg ccagattgtc taagagcaga 660

agattggaaa acttgatcgc ccaattgcca ggtgaaaaga agaacggttt gttcggtaac 720

ttgatcgcct tgtctttggg tttgacccca aacttcaagt ctaacttcga cttggccgaa 780

gacgccaagt tgcaattgtc taaggacacc tacgacgacg acttggacaa cttgttggcc 840

caaatcggtg accaatacgc cgacttgttc ttggccgcca agaacttgtc tgacgccatc 900

ttgttgtctg acatcttgag agtcaacacc gaaatcacca aggccccatt gtctgcctct 960

atgatcaaga gatacgacga acaccaccaa gacttgacct tgttgaaggc cttggtcaga 1020

caacaattgc cagaaaagta caaggaaatc ttcttcgacc aatctaagaa cggttacgcc 1080

ggttacatcg acggtggtgc ctctcaagaa gaattctaca agttcatcaa gccaatcttg 1140

gaaaagatgg acggtaccga agaattgttg gtcaagttga acagagaaga cttgttgaga 1200

aagcaaagaa ccttcgacaa cggttctatc ccacaccaaa tccacttggg tgaattgcac 1260

gccatcttga gaagacaaga agacttctac ccattcttga aggacaacag agaaaagatc 1320

gaaaagatct tgaccttcag aatcccatac tacgtcggtc cattggccag aggtaacagc 1380

agattcgcct ggatgaccag aaagtctgaa gaaaccatca ccccatggaa cttcgaagaa 1440

gtcgtcgaca agggtgcctc tgcccaatct ttcatcgaaa gaatgaccaa cttcgacaag 1500

aacttgccaa acgaaaaggt cttgccaaag cactctttgt tgtacgaata cttcaccgtc 1560

tacaacgaat tgaccaaggt caagtacgtc accgaaggta tgagaaagcc agccttcttg 1620

tctggtgaac aaaagaaggc catcgtcgac ttgttgttca agaccaacag aaaggtcacc 1680

gtcaagcaat tgaaggaaga ctacttcaag aagatcgaat gcttcgactc tgtcgaaatc 1740

tctggtgtcg aagacagatt caacgcctct ttgggtacct accacgactt gttgaagatc 1800

atcaaggaca aggacttctt ggacaacgaa gaaaacgaag acatcttgga agacatcgtc 1860

ttgaccttga ccttgttcga agacagagaa atgatcgaag aaagattgaa gacctacgcc 1920

cacttgttcg acgacaaggt catgaagcaa ttgaagagaa gaagatacac cggttggggt 1980

agattgagca gaaagttgat caacggtatc agagacaagc aatctggtaa gaccatcttg 2040

gacttcttga agtctgacgg tttcgccaac agaaacttca tgcaattgat ccacgacgac 2100

tctttgacct tcaaggaaga catccaaaag gcccaagtct ctggtcaagg tgactctttg 2160

cacgaacaca tcgccaactt ggccggttct ccagccatca agaagggtat cttgcaaacc 2220

gtcaaggtcg tcgacgaatt ggtcaaggtc atgggtagac acaagccaga aaacatcgtc 2280

atcgaaatgg ccagagaaaa ccaaaccacc caaaagggtc aaaagaacag cagagaaaga 2340

atgaagagaa tcgaagaagg tatcaaggaa ttgggttctc aaatcttgaa ggaacaccca 2400

gtcgaaaaca cccaattgca aaacgaaaag ttgtacttgt actacttgca aaacggtaga 2460

gacatgtacg tcgaccaaga attggacatc aacagattgt ctgactacga cgtcgaccac 2520

atcgtcccac aatctttctt gaaggacgac tctatcgaca acaaggtctt gaccagatct 2580

gacaagaaca gaggtaagtc tgacaacgtc ccatctgaag aagtcgtcaa gaagatgaag 2640

aactactgga gacaattgtt gaacgccaag ttgatcaccc aaagaaagtt cgacaacttg 2700

accaaggccg aaagaggtgg tttgtctgaa ttggacaagg ccggtttcat caagagacaa 2760

ttggtcgaaa ccagacaaat caccaagcac gtcgcccaaa tcttggacag cagaatgaac 2820

accaagtacg acgaaaacga caagttgatc agagaagtca aggtcatcac cttgaagtct 2880

aagttggtct ctgacttcag aaaggacttc caattctaca aggtcagaga aatcaacaac 2940

taccaccacg cccacgacgc ctacttgaac gccgtcgtcg gtaccgcctt gatcaagaag 3000

tacccaaagt tggaatctga attcgtctac ggtgactaca aggtctacga cgtcagaaag 3060

atgatcgcca agtctgaaca agaaatcggt aaggccaccg ccaagtactt cttctactct 3120

aacatcatga acttcttcaa gaccgaaatc accttggcca acggtgaaat cagaaagaga 3180

ccattgatcg aaaccaacgg tgaaaccggt gaaatcgtct gggacaaggg tagagacttc 3240

gccaccgtca gaaaggtctt gtctatgcca caagtcaaca tcgtcaagaa gaccgaagtc 3300

caaaccggtg gtttctctaa ggaatctatc ttgccaaaga gaaactctga caagttgatc 3360

gccagaaaga aggactggga cccaaagaag tacggtggtt tcgactctcc aaccgtcgcc 3420

tactctgtct tggtcgtcgc caaggtcgaa aagggtaagt ctaagaagtt gaagtctgtc 3480

aaggaattgt tgggtatcac catcatggaa agatcttctt tcgaaaagaa cccaatcgac 3540

ttcttggaag ccaagggtta caaggaagtc aagaaggact tgatcatcaa gttgccaaag 3600

tactctttgt tcgaattgga aaacggtaga aagagaatgt tggcctctgc cggtgaattg 3660

caaaagggta acgaattggc cttgccatct aagtacgtca acttcttgta cttggcctct 3720

cactacgaaa agttgaaggg ttctccagaa gacaacgaac aaaagcaatt gttcgtcgaa 3780

caacacaagc actacttgga cgaaatcatc gaacaaatct ctgaattctc taagagagtc 3840

atcttggccg acgccaactt ggacaaggtc ttgtctgcct acaacaagca cagagacaag 3900

ccaatcagag aacaagccga aaacatcatc cacttgttca ccttgaccaa cttgggtgcc 3960

ccagccgcct tcaagtactt cgacaccacc atcgacagaa agagatacac ctctaccaag 4020

gaagtcttgg acgccacctt gatccaccaa tctatcaccg gtttgtacga aaccagaatc 4080

gacttgtctc aattgggtgg tgacggtggt ggttctccaa agaagaagag aaaggtctaa 4140

<210> 511
<211> 4140
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 511
atggacaaga agtactccat cggcctggac atcggcacca actccgtggg ctgggccgtg 60

atcaccgacg agtacaaggt gccctccaag aagttcaagg tgctgggcaa caccgaccgg 120

cactccatca agaagaacct gatcggcgcc ctgctgttcg actccggcga gaccgccgag 180

gccacccggc tgaagcggac cgcccggcgg cggtacaccc ggcggaagaa ccggatctgc 240

tacctgcagg agatcttctc caacgagatg gccaaggtgg acgactcctt cttccaccgg 300

ctggaggagt ccttcctggt ggaggaggac aagaagcacg agcggcaccc catcttcggc 360

aacatcgtgg acgaggtggc ctaccacgag aagtacccca ccatctacca cctgcggaag 420

aagctggtgg actccaccga caaggccgac ctgcggctga tctacctggc cctggcccac 480

atgatcaagt tccggggcca cttcctgatc gagggcgacc tgaaccccga caactccgac 540

gtggacaagc tgttcatcca gctggtgcag acctacaacc agctgttcga ggagaacccc 600

atcaacgcct ccggcgtgga cgccaaggcc atcctgtccg cccggctgtc caagtcccgg 660

cggctggaga acctgatcgc ccagctgccc ggcgagaaga agaacggcct gttcggcaac 720

ctgatcgccc tgtccctggg cctgaccccc aacttcaagt ccaacttcga cctggccgag 780

gacgccaagc tgcagctgtc caaggacacc tacgacgacg acctggacaa cctgctggcc 840

cagatcggcg accagtacgc cgacctgttc ctggccgcca agaacctgtc cgacgccatc 900

ctgctgtccg acatcctgcg ggtgaacacc gagatcacca aggcccccct gtccgcctcc 960

atgatcaagc ggtacgacga gcaccaccag gacctgaccc tgctgaaggc cctggtgcgg 1020

cagcagctgc ccgagaagta caaggagatc ttcttcgacc agtccaagaa cggctacgcc 1080

ggctacatcg acggcggcgc ctcccaggag gagttctaca agttcatcaa gcccatcctg 1140

gagaagatgg acggcaccga ggagctgctg gtgaagctga accgggagga cctgctgcgg 1200

aagcagcgga ccttcgacaa cggctccatc ccccaccaga tccacctggg cgagctgcac 1260

gccatcctgc ggcggcagga ggacttctac ccttcctga aggacaaccg ggagaagatc 1320

gagaagatcc tgaccttccg gatcccctac tacgtgggcc ccctggcccg gggcaactcc 1380

cggttcgcct ggatgacccg gaagtccgag gagaccatca ccccctggaa cttcgaggag 1440

gtggtggaca agggcgcctc cgcccagtcc ttcatcgagc ggatgaccaa cttcgacaag 1500

aacctgccca acgagaaggt gctgcccaag cactccctgc tgtacgagta cttcaccgtg 1560

tacaacgagc tgaccaaggt gaagtacgtg accgagggca tgcggaagcc cgccttcctg 1620

tccggcgagc agaagaaggc catcgtggac ctgctgttca agaccaaccg gaaggtgacc 1680

gtgaagcagc tgaaggagga ctacttcaag aagatcgagt gcttcgactc cgtggagatc 1740

tccggcgtgg aggaccggtt caacgcctcc ctgggcacct accacgacct gctgaagatc 1800

atcaaggaca aggacttcct ggacaacgag gagaacgagg acatcctgga ggacatcgtg 1860

ctgaccctga ccctgttcga ggaccgggag atgatcgagg agcggctgaa gacctacgcc 1920

cacctgttcg acgacaaggt gatgaagcag ctgaagcggc ggcggtacac cggctggggc 1980

cggctgtccc ggaagctgat caacggcatc cgggacaagc agtccggcaa gaccatcctg 2040

gacttcctga agtccgacgg cttcgccaac cggaacttca tgcagctgat ccacgacgac 2100

tccctgacct tcaaggagga catccagaag gcccaggtgt ccggccaggg cgactccctg 2160

cacgagcaca tcgccaacct ggccggctcc cccgccatca agaagggcat cctgcagacc 2220

gtgaaggtgg tggacgagct ggtgaaggtg atgggccggc acaagcccga gaacatcgtg 2280

atcgagatgg cccgggagaa ccagaccacc cagaagggcc agaagaactc ccgggagcgg 2340

atgaagcgga tcgaggaggg catcaaggag ctgggctccc agatcctgaa ggagcacccc 2400

gtggagaaca cccagctgca gaacgagaag ctgtacctgt actacctgca gaacggccgg 2460

gacatgtacg tggaccagga gctggacatc aaccggctgt ccgactacga cgtggaccac 2520

atcgtgcccc agtccttcct gaaggacgac tccatcgaca acaaggtgct gacccggtcc 2580

gacaagaacc ggggcaagtc cgacaacgtg ccctccgagg aggtggtgaa gaagatgaag 2640

aactactggc ggcagctgct gaacgccaag ctgatcaccc agcggaagtt cgacaacctg 2700

accaaggccg agcggggcgg cctgtccgag ctggacaagg ccggcttcat caagcggcag 2760

ctggtggaga cccggcagat caccaagcac gtggcccaga tcctggactc ccggatgaac 2820

accaagtacg acgagaacga caagctgatc cgggaggtga aggtgatcac cctgaagtcc 2880

aagctggtgt ccgacttccg gaaggacttc cagttctaca aggtgcggga gatcaacaac 2940

taccaccacg cccacgacgc ctacctgaac gccgtggtgg gcaccgccct gatcaagaag 3000

taccccaagc tggagtccga gttcgtgtac ggcgactaca aggtgtacga cgtgcggaag 3060

atgatcgcca agtccgagca ggagatcggc aaggccaccg ccaagtactt cttctactcc 3120

aacatcatga acttcttcaa gaccgagatc accctggcca acggcgagat ccggaagcgg 3180

cccctgatcg agaccaacgg cgagaccggc gagatcgtgt gggacaaggg ccgggacttc 3240

gccaccgtgc ggaaggtgct gtccatgccc caggtgaaca tcgtgaagaa gaccgaggtg 3300

cagaccggcg gcttctccaa ggagtccatc ctgcccaagc ggaactccga caagctgatc 3360

gcccggaaga aggactggga ccccaagaag tacggcggct tcgactcccc caccgtggcc 3420

tactccgtgc tggtggtggc caaggtggag aagggcaagt ccaagaagct gaagtccgtg 3480

aaggagctgc tgggcatcac catcatggag cggtcctcct tcgagaagaa ccccatcgac 3540

ttcctggagg ccaagggcta caaggaggtg aagaaggacc tgatcatcaa gctgcccaag 3600

tactccctgt tcgagctgga gaacggccgg aagcggatgc tggcctccgc cggcgagctg 3660

cagaagggca acgagctggc cctgccctcc aagtacgtga acttcctgta cctggcctcc 3720

cactacgaga agctgaaggg ctccccccgag gacaacgagc agaagcagct gttcgtggag 3780

cagcacaagc actacctgga cgagatcatc gagcagatct ccgagttctc caagcgggtg 3840

atcctggccg acgccaacct ggacaaggtg ctgtccgcct acaacaagca ccgggacaag 3900

cccatccggg agcaggccga gaacatcatc cacctgttca ccctgaccaa cctgggcgcc 3960

cccgccgcct tcaagtactt cgacaccacc atcgaccgga agcggtacac ctccaccaag 4020

gaggtgctgg acgccaccct gatccaccag tccatcaccg gcctgtacga gacccggatc 4080

gacctgtccc agctgggcgg cgacggcggc ggctccccca agaagaagcg gaaggtgtga 4140

<210> 512
<211> 4140
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 512
atggacaaga agtacagcat cggcctggac atcggcacca acagcgtggg ctgggccgtg 60

atcaccgacg agtacaaggt gcccagcaag aagttcaagg tgctgggcaa caccgaccgg 120

cacagcatca agaagaacct gatcggcgcc ctgctgttcg acagcggcga gaccgccgag 180

gccacccggc tgaagcggac cgcccggcgg cggtacaccc ggcggaagaa ccggatctgc 240

tacctgcagg agatcttcag caacgagatg gccaaggtgg acgacagctt cttccaccgg 300

ctggaggaga gcttcctggt ggaggaggac aagaagcacg agcggcaccc catcttcggc 360

aacatcgtgg acgaggtggc ctaccacgag aagtacccca ccatctacca cctgcggaag 420

aagctggtgg acagcaccga caaggccgac ctgcggctga tctacctggc cctggcccac 480

atgatcaagt tccggggcca cttcctgatc gagggcgacc tgaaccccga caacagcgac 540

gtggacaagc tgttcatcca gctggtgcag acctacaacc agctgttcga ggagaacccc 600

atcaacgcca gcggcgtgga cgccaaggcc atcctgagcg cccggctgag caagagccgg 660

cggctggaga acctgatcgc ccagctgccc ggcgagaaga agaacggcct gttcggcaac 720

ctgatcgccc tgagcctggg cctgaccccc aacttcaaga gcaacttcga cctggccgag 780

gacgccaagc tgcagctgag caaggacacc tacgacgacg acctggacaa cctgctggcc 840

cagatcggcg accagtacgc cgacctgttc ctggccgcca agaacctgag cgacgccatc 900

ctgctgagcg acatcctgcg ggtgaacacc gagatcacca aggcccccct gagcgccagc 960

atgatcaagc ggtacgacga gcaccaccag gacctgaccc tgctgaaggc cctggtgcgg 1020

cagcagctgc ccgagaagta caaggagatc ttcttcgacc agagcaagaa cggctacgcc 1080

ggctacatcg acggcggcgc cagccaggag gagttctaca agttcatcaa gcccatcctg 1140

gagaagatgg acggcaccga ggagctgctg gtgaagctga accgggagga cctgctgcgg 1200

aagcagcgga ccttcgacaa cggcagcatc ccccaccaga tccacctggg cgagctgcac 1260

gccatcctgc ggcggcagga ggacttctac cccttcctga aggacaaccg ggagaagatc 1320

gagaagatcc tgaccttccg gatcccctac tacgtgggcc ccctggcccg gggcaacagc 1380

cggttcgcct ggatgacccg gaagagcgag gagaccatca ccccctggaa cttcgaggag 1440

gtggtggaca agggcgccag cgcccagagc ttcatcgagc ggatgaccaa cttcgacaag 1500

aacctgccca acgagaaggt gctgcccaag cacagcctgc tgtacgagta cttcaccgtg 1560

tacaacgagc tgaccaaggt gaagtacgtg accgagggca tgcggaagcc cgccttcctg 1620

agcggcgagc agaagaaggc catcgtggac ctgctgttca agaccaaccg gaaggtgacc 1680

gtgaagcagc tgaaggagga ctacttcaag aagatcgagt gcttcgacag cgtggagatc 1740

agcggcgtgg aggaccggtt caacgccagc ctgggcacct accacgacct gctgaagatc 1800

atcaaggaca aggacttcct ggacaacgag gagaacgagg acatcctgga ggacatcgtg 1860

ctgaccctga ccctgttcga ggaccgggag atgatcgagg agcggctgaa gacctacgcc 1920

cacctgttcg acgacaaggt gatgaagcag ctgaagcggc ggcggtacac cggctggggc 1980

cggctgagcc ggaagctgat caacggcatc cgggacaagc agagcggcaa gaccatcctg 2040

gacttcctga agagcgacgg cttcgccaac cggaacttca tgcagctgat ccacgacgac 2100

agcctgacct tcaaggagga catccagaag gcccaggtga gcggccaggg cgacagcctg 2160

cacgagcaca tcgccaacct ggccggcagc cccgccatca agaagggcat cctgcagacc 2220

gtgaaggtgg tggacgagct ggtgaaggtg atgggccggc acaagcccga gaacatcgtg 2280

atcgagatgg cccgggagaa ccagaccacc cagaagggcc agaagaacag ccgggagcgg 2340

atgaagcgga tcgaggaggg catcaaggag ctgggcagcc agatcctgaa ggagcacccc 2400

gtggagaaca cccagctgca gaacgagaag ctgtacctgt actacctgca gaacggccgg 2460

gacatgtacg tggaccagga gctggacatc aaccggctga gcgactacga cgtggaccac 2520

atcgtgcccc agagcttcct gaaggacgac agcatcgaca acaaggtgct gacccggagc 2580

gacaagaacc ggggcaagag cgacaacgtg cccagcgagg aggtggtgaa gaagatgaag 2640

aactactggc ggcagctgct gaacgccaag ctgatcaccc agcggaagtt cgacaacctg 2700

accaaggccg agcggggcgg cctgagcgag ctggacaagg ccggcttcat caagcggcag 2760

ctggtggaga cccggcagat caccaagcac gtggcccaga tcctggacag ccggatgaac 2820

accaagtacg acgagaacga caagctgatc cgggaggtga aggtgatcac cctgaagagc 2880

aagctggtga gcgacttccg gaaggacttc cagttctaca aggtgcggga gatcaacaac 2940

taccaccacg cccacgacgc ctacctgaac gccgtggtgg gcaccgccct gatcaagaag 3000

taccccaagc tggagagcga gttcgtgtac ggcgactaca aggtgtacga cgtgcggaag 3060

atgatcgcca agagcgagca ggagatcggc aaggccaccg ccaagtactt cttctacagc 3120

aacatcatga acttcttcaa gaccgagatc accctggcca acggcgagat ccggaagcgg 3180

cccctgatcg agaccaacgg cgagaccggc gagatcgtgt gggacaaggg ccgggacttc 3240

gccaccgtgc ggaaggtgct gagcatgccc caggtgaaca tcgtgaagaa gaccgaggtg 3300

cagaccggcg gcttcagcaa ggagagcatc ctgcccaagc ggaacagcga caagctgatc 3360

gcccggaaga aggactggga ccccaagaag tacggcggct tcgacagccc caccgtggcc 3420

tacagcgtgc tggtggtggc caaggtggag aagggcaaga gcaagaagct gaagagcgtg 3480

aaggagctgc tgggcatcac catcatggag cggagcagct tcgagaagaa ccccatcgac 3540

ttcctggagg ccaagggcta caaggaggtg aagaaggacc tgatcatcaa gctgcccaag 3600

tacagcctgt tcgagctgga gaacggccgg aagcggatgc tggccagcgc cggcgagctg 3660

cagaagggca acgagctggc cctgcccagc aagtacgtga acttcctgta cctggccagc 3720

cactacgaga agctgaaggg cagccccgag gacaacgagc agaagcagct gttcgtggag 3780

cagcacaagc actacctgga cgagatcatc gagcagatca gcgagttcag caagcgggtg 3840

atcctggccg acgccaacct ggacaaggtg ctgagcgcct acaacaagca ccgggacaag 3900

cccatccggg agcaggccga gaacatcatc cacctgttca ccctgaccaa cctgggcgcc 3960

cccgccgcct tcaagtactt cgacaccacc atcgaccgga agcggtacac cagcaccaag 4020

gaggtgctgg acgccaccct gatccaccag agcatcaccg gcctgtacga gacccggatc 4080

gacctgagcc agctgggcgg cgacggcggc ggcagcccca agaagaagcg gaaggtgtga 4140

<210> 513
<211> 4179
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 513

atggacaaga agtactccat cggcctggac atcggcacca actccgtggg ctgggccgtg 60

atcaccgacg agtacaaggt gccctccaag aagttcaagg tgctgggcaa caccgaccgg 120

cactccatca agaagaacct gatcggcgcc ctgctgttcg actccggcga gaccgccgag 180

gccacccggc tgaagcggac cgcccggcgg cggtacaccc ggcggaagaa ccggatctgc 240

tacctgcagg agatcttctc caacgagatg gccaaggtgg acgactcctt cttccaccgg 300

ctggaggagt ccttcctggt ggaggaggac aagaagcacg agcggcaccc catcttcggc 360

aacatcgtgg acgaggtggc ctaccacgag aagtacccca ccatctacca cctgcggaag 420

aagctggtgg actccaccga caaggccgac ctgcggctga tctacctggc cctggcccac 480

atgatcaagt tccggggcca cttcctgatc gagggcgacc tgaaccccga caactccgac 540

gtggacaagc tgttcatcca gctggtgcag acctacaacc agctgttcga ggagaacccc 600

atcaacgcct ccggcgtgga cgccaaggcc atcctgtccg cccggctgtc caagtcccgg 660

cggctggaga acctgatcgc ccagctgccc ggcgagaaga agaacggcct gttcggcaac 720

ctgatcgccc tgtccctggg cctgaccccc aacttcaagt ccaacttcga cctggccgag 780

gacgccaagc tgcagctgtc caaggacacc tacgacgacg acctggacaa cctgctggcc 840

cagatcggcg accagtacgc cgacctgttc ctggccgcca agaacctgtc cgacgccatc 900

ctgctgtccg acatcctgcg ggtgaacacc gagatcacca aggcccccct gtccgcctcc 960

atgatcaagc ggtacgacga gcaccaccag gacctgaccc tgctgaaggc cctggtgcgg 1020

cagcagctgc ccgagaagta caaggagatc ttcttcgacc agtccaagaa cggctacgcc 1080

ggctacatcg acggcggcgc ctcccaggag gagttctaca agttcatcaa gcccatcctg 1140

gagaagatgg acggcaccga ggagctgctg gtgaagctga accgggagga cctgctgcgg 1200

aagcagcgga ccttcgacaa cggctccatc ccccaccaga tccacctggg cgagctgcac 1260

gccatcctgc ggcggcagga ggacttctac ccttcctga aggacaaccg ggagaagatc 1320

gagaagatcc tgaccttccg gatcccctac tacgtgggcc ccctggcccg gggcaactcc 1380

cggttcgcct ggatgacccg gaagtccgag gagaccatca ccccctggaa cttcgaggag 1440

gtggtggaca agggcgcctc cgcccagtcc ttcatcgagc ggatgaccaa cttcgacaag 1500

aacctgccca acgagaaggt gctgcccaag cactccctgc tgtacgagta cttcaccgtg 1560

tacaacgagc tgaccaaggt gaagtacgtg accgagggca tgcggaagcc cgccttcctg 1620

tccggcgagc agaagaaggc catcgtggac ctgctgttca agaccaaccg gaaggtgacc 1680

gtgaagcagc tgaaggagga ctacttcaag aagatcgagt gcttcgactc cgtggagatc 1740

tccggcgtgg aggaccggtt caacgcctcc ctgggcacct accacgacct gctgaagatc 1800

atcaaggaca aggacttcct ggacaacgag gagaacgagg acatcctgga ggacatcgtg 1860

ctgaccctga ccctgttcga ggaccgggag atgatcgagg agcggctgaa gacctacgcc 1920

cacctgttcg acgacaaggt gatgaagcag ctgaagcggc ggcggtacac cggctggggc 1980

cggctgtccc ggaagctgat caacggcatc cgggacaagc agtccggcaa gaccatcctg 2040

gacttcctga agtccgacgg cttcgccaac cggaacttca tgcagctgat ccacgacgac 2100

tccctgacct tcaaggagga catccagaag gcccaggtgt ccggccaggg cgactccctg 2160

cacgagcaca tcgccaacct ggccggctcc cccgccatca agaagggcat cctgcagacc 2220

gtgaaggtgg tggacgagct ggtgaaggtg atgggccggc acaagcccga gaacatcgtg 2280

atcgagatgg cccgggagaa ccagaccacc cagaagggcc agaagaactc ccgggagcgg 2340

atgaagcgga tcgaggaggg catcaaggag ctgggctccc agatcctgaa ggagcacccc 2400

gtggagaaca cccagctgca gaacgagaag ctgtacctgt actacctgca gaacggccgg 2460

gacatgtacg tggaccagga gctggacatc aaccggctgt ccgactacga cgtggaccac 2520

atcgtgcccc agtccttcct gaaggacgac tccatcgaca acaaggtgct gacccggtcc 2580

gacaagaacc ggggcaagtc cgacaacgtg ccctccgagg aggtggtgaa gaagatgaag 2640

aactactggc ggcagctgct gaacgccaag ctgatcaccc agcggaagtt cgacaacctg 2700

accaaggccg agcggggcgg cctgtccgag ctggacaagg ccggcttcat caagcggcag 2760

ctggtggaga cccggcagat caccaagcac gtggcccaga tcctggactc ccggatgaac 2820

accaagtacg acgagaacga caagctgatc cgggaggtga aggtgatcac cctgaagtcc 2880

aagctggtgt ccgacttccg gaaggacttc cagttctaca aggtgcggga gatcaacaac 2940

taccaccacg cccacgacgc ctacctgaac gccgtggtgg gcaccgccct gatcaagaag 3000

taccccaagc tggagtccga gttcgtgtac ggcgactaca aggtgtacga cgtgcggaag 3060

atgatcgcca agtccgagca ggagatcggc aaggccaccg ccaagtactt cttctactcc 3120

aacatcatga acttcttcaa gaccgagatc accctggcca acggcgagat ccggaagcgg 3180

cccctgatcg agaccaacgg cgagaccggc gagatcgtgt gggacaaggg ccgggacttc 3240

gccaccgtgc ggaaggtgct gtccatgccc caggtgaaca tcgtgaagaa gaccgaggtg 3300

cagaccggcg gcttctccaa ggagtccatc ctgcccaagc ggaactccga caagctgatc 3360

gcccggaaga aggactggga ccccaagaag tacggcggct tcgactcccc caccgtggcc 3420

tactccgtgc tggtggtggc caaggtggag aagggcaagt ccaagaagct gaagtccgtg 3480

aaggagctgc tgggcatcac catcatggag cggtcctcct tcgagaagaa ccccatcgac 3540

ttcctggagg ccaagggcta caaggaggtg aagaaggacc tgatcatcaa gctgcccaag 3600

tactccctgt tcgagctgga gaacggccgg aagcggatgc tggcctccgc cggcgagctg 3660

cagaagggca acgagctggc cctgccctcc aagtacgtga acttcctgta cctggcctcc 3720

cactacgaga agctgaaggg ctccccccgag gacaacgagc agaagcagct gttcgtggag 3780

cagcacaagc actacctgga cgagatcatc gagcagatct ccgagttctc caagcgggtg 3840

atcctggccg acgccaacct ggacaaggtg ctgtccgcct acaacaagca ccgggacaag 3900

cccatccggg agcaggccga gaacatcatc cacctgttca ccctgaccaa cctgggcgcc 3960

cccgccgcct tcaagtactt cgacaccacc atcgaccgga agcggtacac ctccaccaag 4020

gaggtgctgg acgccaccct gatccaccag tccatcaccg gcctgtacga gacccggatc 4080

gacctgtccc agctgggcgg cgacggctcc ggctccccca agaagaagcg gaaggtggac 4140

ggctccccca agaagaagcg gaaggtggac tccggctga 4179

<210> 514
<211> 4179
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 514

atggacaaga agtacagcat cggcctggac atcggcacca acagcgtggg ctgggccgtg 60

atcaccgacg agtacaaggt gcccagcaag aagttcaagg tgctgggcaa caccgaccgg 120

cacagcatca agaagaacct gatcggcgcc ctgctgttcg acagcggcga gaccgccgag 180

gccacccggc tgaagcggac cgcccggcgg cggtacaccc ggcggaagaa ccggatctgc 240

tacctgcagg agatcttcag caacgagatg gccaaggtgg acgacagctt cttccaccgg 300

ctggaggaga gcttcctggt ggaggaggac aagaagcacg agcggcaccc catcttcggc 360

aacatcgtgg acgaggtggc ctaccacgag aagtacccca ccatctacca cctgcggaag 420

aagctggtgg acagcaccga caaggccgac ctgcggctga tctacctggc cctggcccac 480

atgatcaagt tccggggcca cttcctgatc gagggcgacc tgaaccccga caacagcgac 540

gtggacaagc tgttcatcca gctggtgcag acctacaacc agctgttcga ggagaacccc 600

atcaacgcca gcggcgtgga cgccaaggcc atcctgagcg cccggctgag caagagccgg 660

cggctggaga acctgatcgc ccagctgccc ggcgagaaga agaacggcct gttcggcaac 720

ctgatcgccc tgagcctggg cctgaccccc aacttcaaga gcaacttcga cctggccgag 780

gacgccaagc tgcagctgag caaggacacc tacgacgacg acctggacaa cctgctggcc 840

cagatcggcg accagtacgc cgacctgttc ctggccgcca agaacctgag cgacgccatc 900

ctgctgagcg acatcctgcg ggtgaacacc gagatcacca aggcccccct gagcgccagc 960

atgatcaagc ggtacgacga gcaccaccag gacctgaccc tgctgaaggc cctggtgcgg 1020

cagcagctgc ccgagaagta caaggagatc ttcttcgacc agagcaagaa cggctacgcc 1080

ggctacatcg acggcggcgc cagccaggag gagttctaca agttcatcaa gcccatcctg 1140

gagaagatgg acggcaccga ggagctgctg gtgaagctga accgggagga cctgctgcgg 1200

aagcagcgga ccttcgacaa cggcagcatc ccccaccaga tccacctggg cgagctgcac 1260

gccatcctgc ggcggcagga ggacttctac cccttcctga aggacaaccg ggagaagatc 1320

gagaagatcc tgaccttccg gatcccctac tacgtgggcc ccctggcccg gggcaacagc 1380

cggttcgcct ggatgacccg gaagagcgag gagaccatca ccccctggaa cttcgaggag 1440

gtggtggaca agggcgccag cgcccagagc ttcatcgagc ggatgaccaa cttcgacaag 1500

aacctgccca acgagaaggt gctgcccaag cacagcctgc tgtacgagta cttcaccgtg 1560

tacaacgagc tgaccaaggt gaagtacgtg accgagggca tgcggaagcc cgccttcctg 1620

agcggcgagc agaagaaggc catcgtggac ctgctgttca agaccaaccg gaaggtgacc 1680

gtgaagcagc tgaaggagga ctacttcaag aagatcgagt gcttcgacag cgtggagatc 1740

agcggcgtgg aggaccggtt caacgccagc ctgggcacct accacgacct gctgaagatc 1800

atcaaggaca aggacttcct ggacaacgag gagaacgagg acatcctgga ggacatcgtg 1860

ctgaccctga ccctgttcga ggaccgggag atgatcgagg agcggctgaa gacctacgcc 1920

cacctgttcg acgacaaggt gatgaagcag ctgaagcggc ggcggtacac cggctggggc 1980

cggctgagcc ggaagctgat caacggcatc cgggacaagc agagcggcaa gaccatcctg 2040

gacttcctga agagcgacgg cttcgccaac cggaacttca tgcagctgat ccacgacgac 2100

agcctgacct tcaaggagga catccagaag gcccaggtga gcggccaggg cgacagcctg 2160

cacgagcaca tcgccaacct ggccggcagc cccgccatca agaagggcat cctgcagacc 2220

gtgaaggtgg tggacgagct ggtgaaggtg atgggccggc acaagcccga gaacatcgtg 2280

atcgagatgg cccgggagaa ccagaccacc cagaagggcc agaagaacag ccgggagcgg 2340

atgaagcgga tcgaggaggg catcaaggag ctgggcagcc agatcctgaa ggagcacccc 2400

gtggagaaca cccagctgca gaacgagaag ctgtacctgt actacctgca gaacggccgg 2460

gacatgtacg tggaccagga gctggacatc aaccggctga gcgactacga cgtggaccac 2520

atcgtgcccc agagcttcct gaaggacgac agcatcgaca acaaggtgct gacccggagc 2580

gacaagaacc ggggcaagag cgacaacgtg cccagcgagg aggtggtgaa gaagatgaag 2640

aactactggc ggcagctgct gaacgccaag ctgatcaccc agcggaagtt cgacaacctg 2700

accaaggccg agcggggcgg cctgagcgag ctggacaagg ccggcttcat caagcggcag 2760

ctggtggaga cccggcagat caccaagcac gtggcccaga tcctggacag ccggatgaac 2820

accaagtacg acgagaacga caagctgatc cgggaggtga aggtgatcac cctgaagagc 2880

aagctggtga gcgacttccg gaaggacttc cagttctaca aggtgcggga gatcaacaac 2940

taccaccacg cccacgacgc ctacctgaac gccgtggtgg gcaccgccct gatcaagaag 3000

taccccaagc tggagagcga gttcgtgtac ggcgactaca aggtgtacga cgtgcggaag 3060

atgatcgcca agagcgagca ggagatcggc aaggccaccg ccaagtactt cttctacagc 3120

aacatcatga acttcttcaa gaccgagatc accctggcca acggcgagat ccggaagcgg 3180

cccctgatcg agaccaacgg cgagaccggc gagatcgtgt gggacaaggg ccgggacttc 3240

gccaccgtgc ggaaggtgct gagcatgccc caggtgaaca tcgtgaagaa gaccgaggtg 3300

cagaccggcg gcttcagcaa ggagagcatc ctgcccaagc ggaacagcga caagctgatc 3360

gcccggaaga aggactggga ccccaagaag tacggcggct tcgacagccc caccgtggcc 3420

tacagcgtgc tggtggtggc caaggtggag aagggcaaga gcaagaagct gaagagcgtg 3480

aaggagctgc tgggcatcac catcatggag cggagcagct tcgagaagaa ccccatcgac 3540

ttcctggagg ccaagggcta caaggaggtg aagaaggacc tgatcatcaa gctgcccaag 3600

tacagcctgt tcgagctgga gaacggccgg aagcggatgc tggccagcgc cggcgagctg 3660

cagaagggca acgagctggc cctgcccagc aagtacgtga acttcctgta cctggccagc 3720

cactacgaga agctgaaggg cagccccgag gacaacgagc agaagcagct gttcgtggag 3780

cagcacaagc actacctgga cgagatcatc gagcagatca gcgagttcag caagcgggtg 3840

atcctggccg acgccaacct ggacaaggtg ctgagcgcct acaacaagca ccgggacaag 3900

cccatccggg agcaggccga gaacatcatc cacctgttca ccctgaccaa cctgggcgcc 3960

cccgccgcct tcaagtactt cgacaccacc atcgaccgga agcggtacac cagcaccaag 4020

gaggtgctgg acgccaccct gatccaccag agcatcaccg gcctgtacga gacccggatc 4080

gacctgagcc agctgggcgg cgacggcagc ggcagcccca agaagaagcg gaaggtggac 4140

ggcagcccca agaagaagcg gaaggtggac agcggctga 4179

<210> 515
<211> 4107
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 515

atggacaaga agtacagcat cggcctggac atcggcacca acagcgtggg ctgggccgtg 60

atcaccgacg agtacaaggt gcccagcaag aagttcaagg tgctgggcaa caccgaccgg 120

cacagcatca agaagaacct gatcggcgcc ctgctgttcg acagcggcga gaccgccgag 180

gccacccggc tgaagcggac cgcccggcgg cggtacaccc ggcggaagaa ccggatctgc 240

tacctgcagg agatcttcag caacgagatg gccaaggtgg acgacagctt cttccaccgg 300

ctggaggaga gcttcctggt ggaggaggac aagaagcacg agcggcaccc catcttcggc 360

aacatcgtgg acgaggtggc ctaccacgag aagtacccca ccatctacca cctgcggaag 420

aagctggtgg acagcaccga caaggccgac ctgcggctga tctacctggc cctggcccac 480

atgatcaagt tccggggcca cttcctgatc gagggcgacc tgaaccccga caacagcgac 540

gtggacaagc tgttcatcca gctggtgcag acctacaacc agctgttcga ggagaacccc 600

atcaacgcca gcggcgtgga cgccaaggcc atcctgagcg cccggctgag caagagccgg 660

cggctggaga acctgatcgc ccagctgccc ggcgagaaga agaacggcct gttcggcaac 720

ctgatcgccc tgagcctggg cctgaccccc aacttcaaga gcaacttcga cctggccgag 780

gacgccaagc tgcagctgag caaggacacc tacgacgacg acctggacaa cctgctggcc 840

cagatcggcg accagtacgc cgacctgttc ctggccgcca agaacctgag cgacgccatc 900

ctgctgagcg acatcctgcg ggtgaacacc gagatcacca aggcccccct gagcgccagc 960

atgatcaagc ggtacgacga gcaccaccag gacctgaccc tgctgaaggc cctggtgcgg 1020

cagcagctgc ccgagaagta caaggagatc ttcttcgacc agagcaagaa cggctacgcc 1080

ggctacatcg acggcggcgc cagccaggag gagttctaca agttcatcaa gcccatcctg 1140

gagaagatgg acggcaccga ggagctgctg gtgaagctga accgggagga cctgctgcgg 1200

aagcagcgga ccttcgacaa cggcagcatc ccccaccaga tccacctggg cgagctgcac 1260

gccatcctgc ggcggcagga ggacttctac cccttcctga aggacaaccg ggagaagatc 1320

gagaagatcc tgaccttccg gatcccctac tacgtgggcc ccctggcccg gggcaacagc 1380

cggttcgcct ggatgacccg gaagagcgag gagaccatca ccccctggaa cttcgaggag 1440

gtggtggaca agggcgccag cgcccagagc ttcatcgagc ggatgaccaa cttcgacaag 1500

aacctgccca acgagaaggt gctgcccaag cacagcctgc tgtacgagta cttcaccgtg 1560

tacaacgagc tgaccaaggt gaagtacgtg accgagggca tgcggaagcc cgccttcctg 1620

agcggcgagc agaagaaggc catcgtggac ctgctgttca agaccaaccg gaaggtgacc 1680

gtgaagcagc tgaaggagga ctacttcaag aagatcgagt gcttcgacag cgtggagatc 1740

agcggcgtgg aggaccggtt caacgccagc ctgggcacct accacgacct gctgaagatc 1800

atcaaggaca aggacttcct ggacaacgag gagaacgagg acatcctgga ggacatcgtg 1860

ctgaccctga ccctgttcga ggaccgggag atgatcgagg agcggctgaa gacctacgcc 1920

cacctgttcg acgacaaggt gatgaagcag ctgaagcggc ggcggtacac cggctggggc 1980

cggctgagcc ggaagctgat caacggcatc cgggacaagc agagcggcaa gaccatcctg 2040

gacttcctga agagcgacgg cttcgccaac cggaacttca tgcagctgat ccacgacgac 2100

agcctgacct tcaaggagga catccagaag gcccaggtga gcggccaggg cgacagcctg 2160

cacgagcaca tcgccaacct ggccggcagc cccgccatca agaagggcat cctgcagacc 2220

gtgaaggtgg tggacgagct ggtgaaggtg atgggccggc acaagcccga gaacatcgtg 2280

atcgagatgg cccgggagaa ccagaccacc cagaagggcc agaagaacag ccgggagcgg 2340

atgaagcgga tcgaggaggg catcaaggag ctgggcagcc agatcctgaa ggagcacccc 2400

gtggagaaca cccagctgca gaacgagaag ctgtacctgt actacctgca gaacggccgg 2460

gacatgtacg tggaccagga gctggacatc aaccggctga gcgactacga cgtggaccac 2520

atcgtgcccc agagcttcct gaaggacgac agcatcgaca acaaggtgct gacccggagc 2580

gacaagaacc ggggcaagag cgacaacgtg cccagcgagg aggtggtgaa gaagatgaag 2640

aactactggc ggcagctgct gaacgccaag ctgatcaccc agcggaagtt cgacaacctg 2700

accaaggccg agcggggcgg cctgagcgag ctggacaagg ccggcttcat caagcggcag 2760

ctggtggaga cccggcagat caccaagcac gtggcccaga tcctggacag ccggatgaac 2820

accaagtacg acgagaacga caagctgatc cgggaggtga aggtgatcac cctgaagagc 2880

aagctggtga gcgacttccg gaaggacttc cagttctaca aggtgcggga gatcaacaac 2940

taccaccacg cccacgacgc ctacctgaac gccgtggtgg gcaccgccct gatcaagaag 3000

taccccaagc tggagagcga gttcgtgtac ggcgactaca aggtgtacga cgtgcggaag 3060

atgatcgcca agagcgagca ggagatcggc aaggccaccg ccaagtactt cttctacagc 3120

aacatcatga acttcttcaa gaccgagatc accctggcca acggcgagat ccggaagcgg 3180

cccctgatcg agaccaacgg cgagaccggc gagatcgtgt gggacaaggg ccgggacttc 3240

gccaccgtgc ggaaggtgct gagcatgccc caggtgaaca tcgtgaagaa gaccgaggtg 3300

cagaccggcg gcttcagcaa ggagagcatc ctgcccaagc ggaacagcga caagctgatc 3360

gcccggaaga aggactggga ccccaagaag tacggcggct tcgacagccc caccgtggcc 3420

tacagcgtgc tggtggtggc caaggtggag aagggcaaga gcaagaagct gaagagcgtg 3480

aaggagctgc tgggcatcac catcatggag cggagcagct tcgagaagaa ccccatcgac 3540

ttcctggagg ccaagggcta caaggaggtg aagaaggacc tgatcatcaa gctgcccaag 3600

tacagcctgt tcgagctgga gaacggccgg aagcggatgc tggccagcgc cggcgagctg 3660

cagaagggca acgagctggc cctgcccagc aagtacgtga acttcctgta cctggccagc 3720

cactacgaga agctgaaggg cagccccgag gacaacgagc agaagcagct gttcgtggag 3780

cagcacaagc actacctgga cgagatcatc gagcagatca gcgagttcag caagcgggtg 3840

atcctggccg acgccaacct ggacaaggtg ctgagcgcct acaacaagca ccgggacaag 3900

cccatccggg agcaggccga gaacatcatc cacctgttca ccctgaccaa cctgggcgcc 3960

cccgccgcct tcaagtactt cgacaccacc atcgaccgga agcggtacac cagcaccaag 4020

gaggtgctgg acgccaccct gatccaccag agcatcaccg gcctgtacga gacccggatc 4080

gacctgagcc agctgggcgg cgactga 4107

<210> 516

<400> 516
000

<210> 517

<400> 517
000

<210> 518

<400> 518
000

<210> 519

<400> 519
000

<210> 520

<400> 520
000

<210> 521

<400> 521
000

<210> 522

<400> 522
000

<210> 523

<400> 523
000

<210> 524

<400> 524
000

<210> 525

<400> 525
000

<210> 526

<400> 526
000

<210> 527

<400> 527
000

<210> 528

<400> 528
000

<210> 529

<400> 529
000

<210> 530

<400> 530
000

<210> 531

<400> 531
000

<210> 532

<400> 532
000

<210> 533

<400> 533
000

<210> 534

<400> 534
000

<210> 535

<400> 535
000

<210> 536

<400> 536
000

<210> 537

<400> 537
000

<210> 538

<400> 538
000

<210> 539

<400> 539
000

<210> 540

<400> 540
000

<210> 541

<400> 541
000

<210> 542

<400> 542
000

<210> 543

<400> 543
000

<210> 544

<400> 544
000

<210> 545

<400> 545
000

<210> 546

<400> 546
000

<210> 547

<400> 547
000

<210> 548

<400> 548
000

<210> 549

<400> 549
000

<210> 550

<400> 550
000

<210> 551

<400> 551
000

<210> 552

<400> 552
000

<210> 553

<400> 553
000

<210> 554

<400> 554
000

<210> 555

<400> 555
000

<210> 556

<400> 556
000

<210> 557

<400> 557
000

<210> 558

<400> 558
000

<210> 559

<400> 559
000

<210> 560

<400> 560
000

<210> 561

<400> 561
000

<210> 562

<400> 562
000

<210> 563

<400> 563
000

<210> 564

<400> 564
000

<210> 565

<400> 565
000

<210> 566

<400> 566
000

<210> 567

<400> 567
000

<210> 568

<400> 568
000

<210> 569

<400> 569
000

<210> 570

<400> 570
000

<210> 571

<400> 571
000

<210> 572

<400> 572
000

<210> 573

<400> 573
000

<210> 574

<400> 574
000

<210> 575

<400> 575
000

<210> 576

<400> 576
000

<210> 577

<400> 577
000

<210> 578

<400> 578
000

<210> 579

<400> 579
000

<210> 580

<400> 580
000

<210> 581

<400> 581
000

<210> 582

<400> 582
000

<210> 583

<400> 583
000

<210> 584

<400> 584
000

<210> 585

<400> 585
000

<210> 586

<400> 586
000

<210> 587

<400> 587
000

<210> 588

<400> 588
000

<210> 589

<400> 589
000

<210> 590

<400> 590
000

<210> 591

<400> 591
000

<210> 592

<400> 592
000

<210> 593

<400> 593
000

<210> 594

<400> 594
000

<210> 595

<400> 595
000

<210> 596

<400> 596
000

<210> 597

<400> 597
000

<210> 598

<400> 598
000

<210> 599

<400> 599
000

<210> 600
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 600

Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
1 5

<210> 601
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 601

Pro Lys Lys Lys Arg Arg Val
1 5

<210> 602
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 602

Lys Arg Pro Ala Ala Thr Lys Lys Ala Gly Gln Ala Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

<210> 603

<400> 603
000

<210> 604

<400> 604
000

<210> 605

<400> 605
000

<210> 606

<400> 606
000

<210> 607

<400> 607
000

<210> 608

<400> 608
000

<210> 609

<400> 609
000

<210> 610

<400> 610
000

<210> 611

<400> 611
000

<210> 612

<400> 612
000

<210> 613

<400> 613
000

<210> 614

<400> 614
000

<210> 615

<400> 615
000

<210> 616

<400> 616
000

<210> 617

<400> 617
000

<210> 618

<400> 618
000

<210> 619

<400> 619
000

<210> 620

<400> 620
000

<210> 621

<400> 621
000

<210> 622

<400> 622
000

<210> 623

<400> 623
000

<210> 624

<400> 624
000

<210> 625

<400> 625
000

<210> 626

<400> 626
000

<210> 627

<400> 627
000

<210> 628

<400> 628
000

<210> 629

<400> 629
000

<210> 630

<400> 630
000

<210> 631

<400> 631
000

<210> 632

<400> 632
000

<210> 633

<400> 633
000

<210> 634

<400> 634
000

<210> 635

<400> 635
000

<210> 636

<400> 636
000

<210> 637

<400> 637
000

<210> 638

<400> 638
000

<210> 639

<400> 639
000

<210> 640

<400> 640
000

<210> 641

<400> 641
000

<210> 642

<400> 642
000

<210> 643

<400> 643
000

<210> 644

<400> 644
000

<210> 645

<400> 645
000

<210> 646

<400> 646
000

<210> 647

<400> 647
000

<210> 648

<400> 648
000

<210> 649

<400> 649
000

<210> 650

<400> 650
000

<210> 651

<400> 651
000

<210> 652

<400> 652
000

<210> 653

<400> 653
000

<210> 654

<400> 654
000

<210> 655

<400> 655
000

<210> 656

<400> 656
000

<210> 657

<400> 657
000

<210> 658

<400> 658
000

<210> 659

<400> 659
000

<210> 660

<400> 660
000

<210> 661

<400> 661
000

<210> 662

<400> 662
000

<210> 663

<400> 663
000

<210> 664

<400> 664
000

<210> 665

<400> 665
000

<210> 666

<400> 666
000

<210> 667

<400> 667
000

<210> 668

<400> 668
000

<210> 669

<400> 669
000

<210> 670

<400> 670
000

<210> 671

<400> 671
000

<210> 672

<400> 672
000

<210> 673

<400> 673
000

<210> 674

<400> 674
000

<210> 675

<400> 675
000

<210> 676

<400> 676
000

<210> 677

<400> 677
000

<210> 678

<400> 678
000

<210> 679

<400> 679
000

<210> 680

<400> 680
000

<210> 681

<400> 681
000

<210> 682

<400> 682
000

<210> 683

<400> 683
000

<210> 684

<400> 684
000

<210> 685

<400> 685
000

<210> 686

<400> 686
000

<210> 687

<400> 687
000

<210> 688

<400> 688
000

<210> 689

<400> 689
000

<210> 690

<400> 690
000

<210> 691

<400> 691
000

<210> 692

<400> 692
000

<210> 693

<400> 693
000

<210> 694

<400> 694
000

<210> 695

<400> 695
000

<210> 696

<400> 696
000

<210> 697

<400> 697
000

<210> 698

<400> 698
000

<210> 699

<400> 699
000

<210> 700

<400> 700
000

<210> 701

<400> 701
000

<210> 702

<400> 702
000

<210> 703

<400> 703
000

<210> 704

<400> 704
000

<210> 705

<400> 705
000

<210> 706

<400> 706
000

<210> 707

<400> 707
000

<210> 708

<400> 708
000

<210> 709

<400> 709
000

<210> 710

<400> 710
000

<210> 711

<400> 711
000

<210> 712

<400> 712
000

<210> 713

<400> 713
000

<210> 714

<400> 714
000

<210> 715

<400> 715
000

<210> 716

<400> 716
000

<210> 717

<400> 717
000

<210> 718

<400> 718
000

<210> 719

<400> 719
000

<210> 720

<400> 720
000

<210> 721

<400> 721
000

<210> 722

<400> 722
000

<210> 723

<400> 723
000

<210> 724

<400> 724
000

<210> 725

<400> 725
000

<210> 726

<400> 726
000

<210> 727

<400> 727
000

<210> 728

<400> 728
000

<210> 729

<400> 729
000

<210> 730

<400> 730
000

<210> 731

<400> 731
000

<210> 732

<400> 732
000

<210> 733

<400> 733
000

<210> 734

<400> 734
000

<210> 735

<400> 735
000

<210> 736

<400> 736
000

<210> 737

<400> 737
000

<210> 738

<400> 738
000

<210> 739

<400> 739
000

<210> 740

<400> 740
000

<210> 741

<400> 741
000

<210> 742

<400> 742
000

<210> 743

<400> 743
000

<210> 744

<400> 744
000

<210> 745

<400> 745
000

<210> 746

<400> 746
000

<210> 747

<400> 747
000

<210> 748

<400> 748
000

<210> 749

<400> 749
000

<210> 750

<400> 750
000

<210> 751

<400> 751
000

<210> 752

<400> 752
000

<210> 753

<400> 753
000

<210> 754

<400> 754
000

<210> 755

<400> 755
000

<210> 756

<400> 756
000

<210> 757

<400> 757
000

<210> 758

<400> 758
000

<210> 759

<400> 759
000

<210> 760

<400> 760
000

<210> 761

<400> 761
000

<210> 762

<400> 762
000

<210> 763

<400> 763
000

<210> 764

<400> 764
000

<210> 765

<400> 765
000

<210> 766

<400> 766
000

<210> 767

<400> 767
000

<210> 768

<400> 768
000

<210> 769

<400> 769
000

<210> 770

<400> 770
000

<210> 771

<400> 771
000

<210> 772

<400> 772
000

<210> 773

<400> 773
000

<210> 774

<400> 774
000

<210> 775

<400> 775
000

<210> 776

<400> 776
000

<210> 777

<400> 777
000

<210> 778

<400> 778
000

<210> 779

<400> 779
000

<210> 780

<400> 780
000

<210> 781

<400> 781
000

<210> 782

<400> 782
000

<210> 783

<400> 783
000

<210> 784

<400> 784
000

<210> 785

<400> 785
000

<210> 786

<400> 786
000

<210> 787

<400> 787
000

<210> 788

<400> 788
000

<210> 789

<400> 789
000

<210> 790

<400> 790
000

<210> 791

<400> 791
000

<210> 792

<400> 792
000

<210> 793

<400> 793
000

<210> 794

<400> 794
000

<210> 795

<400> 795
000

<210> 796

<400> 796
000

<210> 797

<400> 797
000

<210> 798

<400> 798
000

<210> 799

<400> 799
000

<210> 800

<400> 800
000

<210> 801

<400> 801
000

<210> 802

<400> 802
000

<210> 803

<400> 803
000

<210> 804

<400> 804
000

<210> 805

<400> 805
000

<210> 806

<400> 806
000

<210> 807

<400> 807
000

<210> 808

<400> 808
000

<210> 809

<400> 809
000

<210> 810

<400> 810
000

<210> 811

<400> 811
000

<210> 812

<400> 812
000

<210> 813

<400> 813
000

<210> 814

<400> 814
000

<210> 815

<400> 815
000

<210> 816

<400> 816
000

<210> 817

<400> 817
000

<210> 818

<400> 818
000

<210> 819

<400> 819
000

<210> 820

<400> 820
000

<210> 821

<400> 821
000

<210> 822

<400> 822
000

<210> 823

<400> 823
000

<210> 824

<400> 824
000

<210> 825

<400> 825
000

<210> 826

<400> 826
000

<210> 827

<400> 827
000

<210> 828

<400> 828
000

<210> 829

<400> 829
000

<210> 830

<400> 830
000

<210> 831

<400> 831
000

<210> 832

<400> 832
000

<210> 833

<400> 833
000

<210> 834

<400> 834
000

<210> 835

<400> 835
000

<210> 836

<400> 836
000

<210> 837

<400> 837
000

<210> 838

<400> 838
000

<210> 839

<400> 839
000

<210> 840

<400> 840
000

<210> 841

<400> 841
000

<210> 842

<400> 842
000

<210> 843

<400> 843
000

<210> 844

<400> 844
000

<210> 845

<400> 845
000

<210> 846

<400> 846
000

<210> 847

<400> 847
000

<210> 848

<400> 848
000

<210> 849

<400> 849
000

<210> 850

<400> 850
000

<210> 851

<400> 851
000

<210> 852

<400> 852
000

<210> 853

<400> 853
000

<210> 854

<400> 854
000

<210> 855

<400> 855
000

<210> 856

<400> 856
000

<210> 857

<400> 857
000

<210> 858

<400> 858
000

<210> 859

<400> 859
000

<210> 860

<400> 860
000

<210> 861

<400> 861
000

<210> 862

<400> 862
000

<210> 863

<400> 863
000

<210> 864

<400> 864
000

<210> 865

<400> 865
000

<210> 866

<400> 866
000

<210> 867

<400> 867
000

<210> 868

<400> 868
000

<210> 869

<400> 869
000

<210> 870

<400> 870
000

<210> 871

<400> 871
000

<210> 872

<400> 872
000

<210> 873

<400> 873
000

<210> 874

<400> 874
000

<210> 875

<400> 875
000

<210> 876

<400> 876
000

<210> 877

<400> 877
000

<210> 878

<400> 878
000

<210> 879

<400> 879
000

<210> 880

<400> 880
000

<210> 881

<400> 881
000

<210> 882

<400> 882
000

<210> 883

<400> 883
000

<210> 884

<400> 884
000

<210> 885

<400> 885
000

<210> 886

<400> 886
000

<210> 887

<400> 887
000

<210> 888

<400> 888
000

<210> 889

<400> 889
000

<210> 890

<400> 890
000

<210> 891

<400> 891
000

<210> 892

<400> 892
000

<210> 893

<400> 893
000

<210> 894

<400> 894
000

<210> 895

<400> 895
000

<210> 896

<400> 896
000

<210> 897

<400> 897
000

<210> 898

<400> 898
000

<210> 899

<400> 899
000

<210> 900

<400> 900
000

<210> 901

<400> 901
000

<210> 902

<400> 902
000

<210> 903

<400> 903
000

<210> 904

<400> 904
000

<210> 905

<400> 905
000

<210> 906

<400> 906
000

<210> 907

<400> 907
000

<210> 908

<400> 908
000

<210> 909

<400> 909
000

<210> 910

<400> 910
000

<210> 911

<400> 911
000

<210> 912

<400> 912
000

<210> 913

<400> 913
000

<210> 914

<400> 914
000

<210> 915

<400> 915
000

<210> 916

<400> 916
000

<210> 917

<400> 917
000

<210> 918

<400> 918
000

<210> 919

<400> 919
000

<210> 920

<400> 920
000

<210> 921

<400> 921
000

<210> 922

<400> 922
000

<210> 923

<400> 923
000

<210> 924

<400> 924
000

<210> 925

<400> 925
000

<210> 926

<400> 926
000

<210> 927

<400> 927
000

<210> 928

<400> 928
000

<210> 929

<400> 929
000

<210> 930

<400> 930
000

<210> 931

<400> 931
000

<210> 932

<400> 932
000

<210> 933

<400> 933
000

<210> 934

<400> 934
000

<210> 935

<400> 935
000

<210> 936

<400> 936
000

<210> 937

<400> 937
000

<210> 938

<400> 938
000

<210> 939

<400> 939
000

<210> 940

<400> 940
000

<210> 941

<400> 941
000

<210> 942

<400> 942
000

<210> 943

<400> 943
000

<210> 944

<400> 944
000

<210> 945

<400> 945
000

<210> 946

<400> 946
000

<210> 947

<400> 947
000

<210> 948

<400> 948
000

<210> 949

<400> 949
000

<210> 950

<400> 950
000

<210> 951

<400> 951
000

<210> 952

<400> 952
000

<210> 953

<400> 953
000

<210> 954

<400> 954
000

<210> 955

<400> 955
000

<210> 956

<400> 956
000

<210> 957

<400> 957
000

<210> 958

<400> 958
000

<210> 959

<400> 959
000

<210> 960

<400> 960
000

<210> 961

<400> 961
000

<210> 962

<400> 962
000

<210> 963

<400> 963
000

<210> 964

<400> 964
000

<210> 965

<400> 965
000

<210> 966

<400> 966
000

<210> 967

<400> 967
000

<210> 968

<400> 968
000

<210> 969

<400> 969
000

<210> 970

<400> 970
000

<210> 971

<400> 971
000

<210> 972

<400> 972
000

<210> 973

<400> 973
000

<210> 974

<400> 974
000

<210> 975

<400> 975
000

<210> 976

<400> 976
000

<210> 977

<400> 977
000

<210> 978

<400> 978
000

<210> 979

<400> 979
000

<210> 980

<400> 980
000

<210> 981

<400> 981
000

<210> 982

<400> 982
000

<210> 983

<400> 983
000

<210> 984

<400> 984
000

<210> 985

<400> 985
000

<210> 986

<400> 986
000

<210> 987

<400> 987
000

<210> 988

<400> 988
000

<210> 989

<400> 989
000

<210> 990

<400> 990
000

<210> 991

<400> 991
000

<210> 992

<400> 992
000

<210> 993

<400> 993
000

<210> 994

<400> 994
000

<210> 995

<400> 995
000

<210> 996

<400> 996
000

<210> 997

<400> 997
000

<210> 998

<400> 998
000

<210> 999

<400> 999
000

<210> 1000

<400> 1000
000

<210> 1001
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1001

acauagaccu accuuaauca guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1002

<400> 1002
000

<210> 1003

<400> 1003
000

<210> 1004

<400> 1004
000

<210> 1005
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1005
ccuaucauac agugcuuaug guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1006

<400> 1006
000

<210> 1007
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1007
uagaccuacc uuaaucaugg guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1008
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1008
uacagagagu ccaauagccc guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1009

<400> 1009
000

<210> 1010

<400> 1010
000

<210> 1011

<400> 1011
000

<210> 1012

<400> 1012
000

<210> 1013

<400> 1013
000

<210> 1014
<211> 99
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1014
uacacuuugg gggauccaaa uuuuagagcu agaaauagca aguuaaaaua aggcuagucc 60

guuaucaacu ugaaaaagug gcaccgaguc ggugcuuuu 99

<210> 1015

<400> 1015
000

<210> 1016

<400> 1016
000

<210> 1017

<400> 1017
000

<210> 1018

<400> 1018
000

<210> 1019

<400> 1019
000

<210> 1020

<400> 1020
000

<210> 1021

<400> 1021
000

<210> 1022

<400> 1022
000

<210> 1023
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1023
uauuucuuuu agugccugua guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1024

<400> 1024
000

<210> 1025

<400> 1025
000

<210> 1026

<400> 1026
000

<210> 1027
<211> 99
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1027
cuuuaucagu cccuaaaucu uuuuagagcu agaaauagca aguuaaaaua aggcuagucc 60

guuaucaacu ugaaaaagug gcaccgaguc ggugcuuuu 99

<210> 1028

<400> 1028
000

<210> 1029

<400> 1029
000

<210> 1030

<400> 1030
000

<210> 1031

<400> 1031
000

<210> 1032
<211> 99
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1032
uuuagggacu gauaaagaua uuuuagagcu agaaauagca aguuaaaaua aggcuagucc 60

guuaucaacu ugaaaaagug gcaccgaguc ggugcuuuu 99

<210> 1033

<400> 1033
000

<210> 1034

<400> 1034
000

<210> 1035

<400> 1035
000

<210> 1036

<400> 1036
000

<210> 1037

<400> 1037
000

<210> 1038

<400> 1038
000

<210> 1039

<400> 1039
000

<210> 1040

<400> 1040
000

<210> 1041

<400> 1041
000

<210> 1042

<400> 1042
000

<210> 1043

<400> 1043
000

<210> 1044

<400> 1044
000

<210> 1045
<211> 99
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1045
ccuuaaucau gguggaaacu uuuuagagcu agaaauagca aguuaaaaua aggcuagucc 60

guuaucaacu ugaaaaagug gcaccgaguc ggugcuuuu 99

<210> 1046

<400> 1046

000

<210> 1047

<400> 1047
000

<210> 1048
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1048
gaaggugacu cugacuucug guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1049

<400> 1049
000

<210> 1050

<400> 1050
000

<210> 1051

<400> 1051
000

<210> 1052

<400> 1052
000

<210> 1053

<400> 1053
000

<210> 1054

<400> 1054
000

<210> 1055

<400> 1055
000

<210> 1056

<400> 1056
000

<210> 1057

<400> 1057
000

<210> 1058

<400> 1058
000

<210> 1059

<400> 1059
000

<210> 1060

<400> 1060
000

<210> 1061

<400> 1061
000

<210> 1062

<400> 1062
000

<210> 1063
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1063

cgguuuauua accccaagug guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1064

<400> 1064
000

<210> 1065

<400> 1065
000

<210> 1066

<400> 1066
000

<210> 1067
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1067
accgcgaugg gugagcccuc guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1068

<400> 1068
000

<210> 1069
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1069
accgcacgcu ucagugccuu guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1070

<400> 1070
000

<210> 1071
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1071
guguaaguau agccuccuga guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1072

<400> 1072
000

<210> 1073

<400> 1073
000

<210> 1074
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1074
ggaaaggcca gccccacuug guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1075

<400> 1075
000

<210> 1076
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1076
ugccacaaag cucgagccca guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60
cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1077
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1077
gguguaagua uagccuccug guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60
cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1078
<211> 99
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1078
uccugagggc ucacccaucg uuuuagagcu agaaauagca aguuaaaaua aggcuagucc 60
guuaucaacu ugaaaaagug gcaccgaguc ggugcuuuu 99

<210> 1079
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1079
aggaaaggcc agccccacuu guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1080

<400> 1080
000

<210> 1081
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 1081
gaggaaaggc cagccccacu guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 1082

<400> 1082
000

<210> 1083

<400> 1083
000

<210> 1084

<400> 1084
000

<210> 1085

<400> 1085
000

<210> 1086

<400> 1086
000

<210> 1087

<400> 1087
000

<210> 1088

<400> 1088
000

<210> 1089

<400> 1089
000

<210> 1090

<400> 1090
000

<210> 1091

<400> 1091
000

<210> 1092

<400> 1092
000

<210> 1093

<400> 1093
000

<210> 1094

<400> 1094
000

<210> 1095

<400> 1095
000

<210> 1096

<400> 1096
000

<210> 1097

<400> 1097
000

<210> 1098

<400> 1098
000

<210> 1099

<400> 1099
000

<210> 1100

<400> 1100
000

<210> 1101

<400> 1101
000

<210> 1102

<400> 1102
000

<210> 1103

<400> 1103
000

<210> 1104

<400> 1104
000

<210> 1105

<400> 1105
000

<210> 1106

<400> 1106
000

<210> 1107

<400> 1107
000

<210> 1108

<400> 1108
000

<210> 1109

<400> 1109
000

<210> 1110

<400> 1110
000

<210> 1111

<400> 1111
000

<210> 1112

<400> 1112
000

<210> 1113

<400> 1113
000

<210> 1114

<400> 1114
000

<210> 1115

<400> 1115
000

<210> 1116

<400> 1116
000

<210> 1117

<400> 1117
000

<210> 1118

<400> 1118
000

<210> 1119

<400> 1119
000

<210> 1120

<400> 1120
000

<210> 1121

<400> 1121
000

<210> 1122

<400> 1122
000

<210> 1123

<400> 1123
000

<210> 1124

<400> 1124
000

<210> 1125

<400> 1125
000

<210> 1126

<400> 1126
000

<210> 1127

<400> 1127
000

<210> 1128

<400> 1128
000

<210> 1129

<400> 1129
000

<210> 1130

<400> 1130
000

<210> 1131

<400> 1131
000

<210> 1132

<400> 1132
000

<210> 1133

<400> 1133
000

<210> 1134

<400> 1134
000

<210> 1135

<400> 1135
000

<210> 1136

<400> 1136
000

<210> 1137

<400> 1137
000

<210> 1138

<400> 1138
000

<210> 1139

<400> 1139
000

<210> 1140

<400> 1140
000

<210> 1141

<400> 1141
000

<210> 1142

<400> 1142
000

<210> 1143

<400> 1143
000

<210> 1144

<400> 1144
000

<210> 1145

<400> 1145
000

<210> 1146

<400> 1146
000

<210> 1147

<400> 1147
000

<210> 1148

<400> 1148
000

<210> 1149

<400> 1149
000

<210> 1150

<400> 1150
000

<210> 1151

<400> 1151
000

<210> 1152

<400> 1152
000

<210> 1153

<400> 1153
000

<210> 1154

<400> 1154
000

<210> 1155

<400> 1155
000

<210> 1156

<400> 1156
000

<210> 1157

<400> 1157
000

<210> 1158

<400> 1158
000

<210> 1159

<400> 1159
000

<210> 1160

<400> 1160
000

<210> 1161

<400> 1161
000

<210> 1162

<400> 1162
000

<210> 1163

<400> 1163
000

<210> 1164

<400> 1164
000

<210> 1165

<400> 1165
000

<210> 1166

<400> 1166
000

<210> 1167

<400> 1167
000

<210> 1168

<400> 1168
000

<210> 1169

<400> 1169
000

<210> 1170

<400> 1170
000

<210> 1171

<400> 1171
000

<210> 1172

<400> 1172
000

<210> 1173

<400> 1173
000

<210> 1174

<400> 1174
000

<210> 1175

<400> 1175
000

<210> 1176

<400> 1176
000

<210> 1177

<400> 1177
000

<210> 1178

<400> 1178
000

<210> 1179

<400> 1179
000

<210> 1180

<400> 1180
000

<210> 1181

<400> 1181
000

<210> 1182

<400> 1182
000

<210> 1183

<400> 1183
000

<210> 1184

<400> 1184
000

<210> 1185

<400> 1185
000

<210> 1186

<400> 1186
000

<210> 1187

<400> 1187
000

<210> 1188

<400> 1188
000

<210> 1189

<400> 1189
000

<210> 1190

<400> 1190
000

<210> 1191

<400> 1191
000

<210> 1192

<400> 1192
000

<210> 1193

<400> 1193
000

<210> 1194

<400> 1194
000

<210> 1195

<400> 1195
000

<210> 1196

<400> 1196
000

<210> 1197

<400> 1197
000

<210> 1198

<400> 1198
000

<210> 1199

<400> 1199
000

<210> 1200

<400> 1200
000

<210> 1201

<400> 1201
000

<210> 1202

<400> 1202
000

<210> 1203

<400> 1203
000

<210> 1204

<400> 1204
000

<210> 1205

<400> 1205
000

<210> 1206

<400> 1206
000

<210> 1207

<400> 1207
000

<210> 1208

<400> 1208
000

<210> 1209

<400> 1209
000

<210> 1210

<400> 1210
000

<210> 1211

<400> 1211
000

<210> 1212

<400> 1212
000

<210> 1213

<400> 1213
000

<210> 1214

<400> 1214
000

<210> 1215

<400> 1215
000

<210> 1216

<400> 1216
000

<210> 1217

<400> 1217
000

<210> 1218

<400> 1218
000

<210> 1219

<400> 1219
000

<210> 1220

<400> 1220
000

<210> 1221

<400> 1221
000

<210> 1222

<400> 1222
000

<210> 1223

<400> 1223
000

<210> 1224

<400> 1224
000

<210> 1225

<400> 1225
000

<210> 1226

<400> 1226
000

<210> 1227

<400> 1227
000

<210> 1228

<400> 1228
000

<210> 1229

<400> 1229
000

<210> 1230

<400> 1230
000

<210> 1231

<400> 1231
000

<210> 1232

<400> 1232
000

<210> 1233

<400> 1233
000

<210> 1234

<400> 1234
000

<210> 1235

<400> 1235
000

<210> 1236

<400> 1236
000

<210> 1237

<400> 1237
000

<210> 1238

<400> 1238
000

<210> 1239

<400> 1239
000

<210> 1240

<400> 1240
000

<210> 1241

<400> 1241
000

<210> 1242

<400> 1242
000

<210> 1243

<400> 1243
000

<210> 1244

<400> 1244
000

<210> 1245

<400> 1245
000

<210> 1246

<400> 1246
000

<210> 1247

<400> 1247
000

<210> 1248

<400> 1248
000

<210> 1249

<400> 1249
000

<210> 1250

<400> 1250
000

<210> 1251

<400> 1251
000

<210> 1252

<400> 1252
000

<210> 1253

<400> 1253
000

<210> 1254

<400> 1254
000

<210> 1255

<400> 1255
000

<210> 1256

<400> 1256
000

<210> 1257

<400> 1257
000

<210> 1258

<400> 1258
000

<210> 1259

<400> 1259
000

<210> 1260

<400> 1260
000

<210> 1261

<400> 1261
000

<210> 1262

<400> 1262
000

<210> 1263

<400> 1263
000

<210> 1264

<400> 1264
000

<210> 1265

<400> 1265
000

<210> 1266

<400> 1266
000

<210> 1267

<400> 1267
000

<210> 1268

<400> 1268
000

<210> 1269

<400> 1269
000

<210> 1270

<400> 1270
000

<210> 1271

<400> 1271
000

<210> 1272

<400> 1272
000

<210> 1273

<400> 1273
000

<210> 1274

<400> 1274
000

<210> 1275

<400> 1275
000

<210> 1276

<400> 1276
000

<210> 1277

<400> 1277
000

<210> 1278

<400> 1278
000

<210> 1279

<400> 1279
000

<210> 1280

<400> 1280
000

<210> 1281

<400> 1281
000

<210> 1282

<400> 1282
000

<210> 1283

<400> 1283
000

<210> 1284

<400> 1284
000

<210> 1285

<400> 1285
000

<210> 1286

<400> 1286
000

<210> 1287

<400> 1287
000

<210> 1288

<400> 1288
000

<210> 1289

<400> 1289
000

<210> 1290

<400> 1290
000

<210> 1291

<400> 1291
000

<210> 1292

<400> 1292
000

<210> 1293

<400> 1293
000

<210> 1294

<400> 1294
000

<210> 1295

<400> 1295
000

<210> 1296

<400> 1296
000

<210> 1297

<400> 1297
000

<210> 1298

<400> 1298
000

<210> 1299

<400> 1299
000

<210> 1300

<400> 1300
000

<210> 1301

<400> 1301
000

<210> 1302

<400> 1302
000

<210> 1303

<400> 1303
000

<210> 1304

<400> 1304
000

<210> 1305

<400> 1305
000

<210> 1306

<400> 1306
000

<210> 1307

<400> 1307
000

<210> 1308

<400> 1308
000

<210> 1309

<400> 1309
000

<210> 1310

<400> 1310
000

<210> 1311

<400> 1311
000

<210> 1312

<400> 1312
000

<210> 1313

<400> 1313
000

<210> 1314

<400> 1314
000

<210> 1315

<400> 1315
000

<210> 1316

<400> 1316
000

<210> 1317

<400> 1317
000

<210> 1318

<400> 1318
000

<210> 1319

<400> 1319
000

<210> 1320

<400> 1320
000

<210> 1321

<400> 1321
000

<210> 1322

<400> 1322
000

<210> 1323

<400> 1323
000

<210> 1324

<400> 1324
000

<210> 1325

<400> 1325
000

<210> 1326

<400> 1326
000

<210> 1327

<400> 1327
000

<210> 1328

<400> 1328
000

<210> 1329

<400> 1329
000

<210> 1330

<400> 1330
000

<210> 1331

<400> 1331
000

<210> 1332

<400> 1332
000

<210> 1333

<400> 1333
000

<210> 1334

<400> 1334
000

<210> 1335

<400> 1335
000

<210> 1336

<400> 1336
000

<210> 1337

<400> 1337
000

<210> 1338

<400> 1338
000

<210> 1339

<400> 1339
000

<210> 1340

<400> 1340
000

<210> 1341

<400> 1341
000

<210> 1342

<400> 1342
000

<210> 1343

<400> 1343
000

<210> 1344

<400> 1344
000

<210> 1345

<400> 1345
000

<210> 1346

<400> 1346
000

<210> 1347

<400> 1347
000

<210> 1348

<400> 1348
000

<210> 1349

<400> 1349
000

<210> 1350

<400> 1350
000

<210> 1351

<400> 1351
000

<210> 1352

<400> 1352
000

<210> 1353

<400> 1353
000

<210> 1354

<400> 1354
000

<210> 1355

<400> 1355
000

<210> 1356

<400> 1356
000

<210> 1357

<400> 1357
000

<210> 1358

<400> 1358
000

<210> 1359

<400> 1359
000

<210> 1360

<400> 1360
000

<210> 1361

<400> 1361
000

<210> 1362

<400> 1362
000

<210> 1363

<400> 1363
000

<210> 1364

<400> 1364
000

<210> 1365

<400> 1365
000

<210> 1366

<400> 1366
000

<210> 1367

<400> 1367
000

<210> 1368

<400> 1368
000

<210> 1369

<400> 1369
000

<210> 1370

<400> 1370
000

<210> 1371

<400> 1371
000

<210> 1372

<400> 1372
000

<210> 1373

<400> 1373
000

<210> 1374

<400> 1374
000

<210> 1375

<400> 1375
000

<210> 1376

<400> 1376
000

<210> 1377

<400> 1377
000

<210> 1378

<400> 1378
000

<210> 1379

<400> 1379
000

<210> 1380

<400> 1380
000

<210> 1381

<400> 1381
000

<210> 1382

<400> 1382
000

<210> 1383

<400> 1383
000

<210> 1384

<400> 1384
000

<210> 1385

<400> 1385
000

<210> 1386

<400> 1386
000

<210> 1387

<400> 1387
000

<210> 1388

<400> 1388
000

<210> 1389

<400> 1389
000

<210> 1390

<400> 1390
000

<210> 1391

<400> 1391
000

<210> 1392

<400> 1392
000

<210> 1393

<400> 1393
000

<210> 1394

<400> 1394
000

<210> 1395

<400> 1395
000

<210> 1396

<400> 1396
000

<210> 1397

<400> 1397
000

<210> 1398

<400> 1398
000

<210> 1399

<400> 1399
000

<210> 1400

<400> 1400
000

<210> 1401

<400> 1401
000

<210> 1402

<400> 1402
000

<210> 1403

<400> 1403
000

<210> 1404

<400> 1404
000

<210> 1405

<400> 1405
000

<210> 1406

<400> 1406
000

<210> 1407

<400> 1407
000

<210> 1408

<400> 1408
000

<210> 1409

<400> 1409
000

<210> 1410

<400> 1410
000

<210> 1411

<400> 1411
000

<210> 1412

<400> 1412
000

<210> 1413

<400> 1413
000

<210> 1414

<400> 1414
000

<210> 1415

<400> 1415
000

<210> 1416

<400> 1416
000

<210> 1417

<400> 1417
000

<210> 1418

<400> 1418
000

<210> 1419

<400> 1419
000

<210> 1420

<400> 1420
000

<210> 1421

<400> 1421
000

<210> 1422

<400> 1422
000

<210> 1423

<400> 1423
000

<210> 1424

<400> 1424
000

<210> 1425

<400> 1425
000

<210> 1426

<400> 1426
000

<210> 1427

<400> 1427
000

<210> 1428

<400> 1428
000

<210> 1429

<400> 1429
000

<210> 1430

<400> 1430
000

<210> 1431

<400> 1431
000

<210> 1432

<400> 1432
000

<210> 1433

<400> 1433
000

<210> 1434

<400> 1434
000

<210> 1435

<400> 1435
000

<210> 1436

<400> 1436
000

<210> 1437

<400> 1437
000

<210> 1438

<400> 1438
000

<210> 1439

<400> 1439
000

<210> 1440

<400> 1440
000

<210> 1441

<400> 1441
000

<210> 1442

<400> 1442
000

<210> 1443

<400> 1443
000

<210> 1444

<400> 1444
000

<210> 1445

<400> 1445
000

<210> 1446

<400> 1446
000

<210> 1447

<400> 1447
000

<210> 1448

<400> 1448
000

<210> 1449

<400> 1449
000

<210> 1450

<400> 1450
000

<210> 1451

<400> 1451
000

<210> 1452

<400> 1452
000

<210> 1453

<400> 1453
000

<210> 1454

<400> 1454
000

<210> 1455

<400> 1455
000

<210> 1456

<400> 1456
000

<210> 1457

<400> 1457
000

<210> 1458

<400> 1458
000

<210> 1459

<400> 1459
000

<210> 1460

<400> 1460
000

<210> 1461

<400> 1461
000

<210> 1462

<400> 1462
000

<210> 1463

<400> 1463
000

<210> 1464

<400> 1464
000

<210> 1465

<400> 1465
000

<210> 1466

<400> 1466
000

<210> 1467

<400> 1467
000

<210> 1468

<400> 1468
000

<210> 1469

<400> 1469
000

<210> 1470

<400> 1470
000

<210> 1471

<400> 1471
000

<210> 1472

<400> 1472
000

<210> 1473

<400> 1473
000

<210> 1474

<400> 1474
000

<210> 1475

<400> 1475
000

<210> 1476

<400> 1476
000

<210> 1477

<400> 1477
000

<210> 1478

<400> 1478
000

<210> 1479

<400> 1479
000

<210> 1480

<400> 1480
000

<210> 1481

<400> 1481
000

<210> 1482

<400> 1482
000

<210> 1483

<400> 1483
000

<210> 1484

<400> 1484
000

<210> 1485

<400> 1485
000

<210> 1486

<400> 1486
000

<210> 1487

<400> 1487
000

<210> 1488

<400> 1488
000

<210> 1489

<400> 1489
000

<210> 1490

<400> 1490
000

<210> 1491

<400> 1491
000

<210> 1492

<400> 1492
000

<210> 1493

<400> 1493
000

<210> 1494

<400> 1494
000

<210> 1495

<400> 1495
000

<210> 1496

<400> 1496
000

<210> 1497

<400> 1497
000

<210> 1498

<400> 1498
000

<210> 1499

<400> 1499
000

<210> 1500

<400> 1500
000

<210> 1501

<400> 1501
000

<210> 1502

<400> 1502
000

<210> 1503

<400> 1503
000

<210> 1504

<400> 1504
000

<210> 1505

<400> 1505
000

<210> 1506

<400> 1506
000

<210> 1507

<400> 1507
000

<210> 1508

<400> 1508
000

<210> 1509

<400> 1509
000

<210> 1510

<400> 1510
000

<210> 1511

<400> 1511
000

<210> 1512

<400> 1512
000

<210> 1513

<400> 1513
000

<210> 1514

<400> 1514
000

<210> 1515

<400> 1515
000

<210> 1516

<400> 1516
000

<210> 1517

<400> 1517
000

<210> 1518

<400> 1518
000

<210> 1519

<400> 1519
000

<210> 1520

<400> 1520
000

<210> 1521

<400> 1521
000

<210> 1522

<400> 1522
000

<210> 1523

<400> 1523
000

<210> 1524

<400> 1524
000

<210> 1525

<400> 1525
000

<210> 1526

<400> 1526
000

<210> 1527

<400> 1527
000

<210> 1528

<400> 1528
000

<210> 1529

<400> 1529
000

<210> 1530

<400> 1530
000

<210> 1531

<400> 1531
000

<210> 1532

<400> 1532
000

<210> 1533

<400> 1533
000

<210> 1534

<400> 1534
000

<210> 1535

<400> 1535
000

<210> 1536

<400> 1536
000

<210> 1537

<400> 1537
000

<210> 1538

<400> 1538
000

<210> 1539

<400> 1539
000

<210> 1540

<400> 1540
000

<210> 1541

<400> 1541
000

<210> 1542

<400> 1542
000

<210> 1543

<400> 1543
000

<210> 1544

<400> 1544
000

<210> 1545

<400> 1545
000

<210> 1546

<400> 1546
000

<210> 1547

<400> 1547
000

<210> 1548

<400> 1548
000

<210> 1549

<400> 1549
000

<210> 1550

<400> 1550
000

<210> 1551

<400> 1551
000

<210> 1552

<400> 1552
000

<210> 1553

<400> 1553
000

<210> 1554

<400> 1554
000

<210> 1555

<400> 1555
000

<210> 1556

<400> 1556
000

<210> 1557

<400> 1557
000

<210> 1558

<400> 1558
000

<210> 1559

<400> 1559
000

<210> 1560

<400> 1560
000

<210> 1561

<400> 1561
000

<210> 1562

<400> 1562
000

<210> 1563

<400> 1563
000

<210> 1564

<400> 1564
000

<210> 1565

<400> 1565
000

<210> 1566

<400> 1566
000

<210> 1567

<400> 1567
000

<210> 1568

<400> 1568
000

<210> 1569

<400> 1569
000

<210> 1570

<400> 1570
000

<210> 1571

<400> 1571
000

<210> 1572

<400> 1572
000

<210> 1573

<400> 1573
000

<210> 1574

<400> 1574
000

<210> 1575

<400> 1575
000

<210> 1576

<400> 1576
000

<210> 1577

<400> 1577
000

<210> 1578

<400> 1578
000

<210> 1579

<400> 1579
000

<210> 1580

<400> 1580
000

<210> 1581

<400> 1581
000

<210> 1582

<400> 1582
000

<210> 1583

<400> 1583
000

<210> 1584

<400> 1584
000

<210> 1585

<400> 1585
000

<210> 1586

<400> 1586
000

<210> 1587

<400> 1587
000

<210> 1588

<400> 1588
000

<210> 1589

<400> 1589
000

<210> 1590

<400> 1590
000

<210> 1591

<400> 1591
000

<210> 1592

<400> 1592
000

<210> 1593

<400> 1593
000

<210> 1594

<400> 1594
000

<210> 1595

<400> 1595
000

<210> 1596

<400> 1596
000

<210> 1597

<400> 1597
000

<210> 1598

<400> 1598
000

<210> 1599

<400> 1599
000

<210> 1600

<400> 1600
000

<210> 1601

<400> 1601
000

<210> 1602

<400> 1602
000

<210> 1603

<400> 1603
000

<210> 1604

<400> 1604
000

<210> 1605

<400> 1605
000

<210> 1606

<400> 1606
000

<210> 1607

<400> 1607
000

<210> 1608

<400> 1608
000

<210> 1609

<400> 1609
000

<210> 1610

<400> 1610
000

<210> 1611

<400> 1611
000

<210> 1612

<400> 1612
000

<210> 1613

<400> 1613
000

<210> 1614

<400> 1614
000

<210> 1615

<400> 1615
000

<210> 1616

<400> 1616
000

<210> 1617

<400> 1617
000

<210> 1618

<400> 1618
000

<210> 1619

<400> 1619
000

<210> 1620

<400> 1620
000

<210> 1621

<400> 1621
000

<210> 1622

<400> 1622
000

<210> 1623

<400> 1623
000

<210> 1624

<400> 1624
000

<210> 1625

<400> 1625
000

<210> 1626

<400> 1626
000

<210> 1627

<400> 1627
000

<210> 1628

<400> 1628
000

<210> 1629

<400> 1629
000

<210> 1630

<400> 1630
000

<210> 1631

<400> 1631
000

<210> 1632

<400> 1632
000

<210> 1633

<400> 1633
000

<210> 1634

<400> 1634
000

<210> 1635

<400> 1635
000

<210> 1636

<400> 1636
000

<210> 1637

<400> 1637
000

<210> 1638

<400> 1638
000

<210> 1639

<400> 1639
000

<210> 1640

<400> 1640
000

<210> 1641

<400> 1641
000

<210> 1642

<400> 1642
000

<210> 1643

<400> 1643
000

<210> 1644

<400> 1644
000

<210> 1645

<400> 1645
000

<210> 1646

<400> 1646
000

<210> 1647

<400> 1647
000

<210> 1648

<400> 1648
000

<210> 1649

<400> 1649
000

<210> 1650

<400> 1650
000

<210> 1651

<400> 1651
000

<210> 1652

<400> 1652
000

<210> 1653

<400> 1653
000

<210> 1654

<400> 1654
000

<210> 1655

<400> 1655
000

<210> 1656

<400> 1656
000

<210> 1657

<400> 1657
000

<210> 1658

<400> 1658
000

<210> 1659

<400> 1659
000

<210> 1660

<400> 1660
000

<210> 1661

<400> 1661
000

<210> 1662

<400> 1662
000

<210> 1663

<400> 1663
000

<210> 1664

<400> 1664
000

<210> 1665

<400> 1665
000

<210> 1666

<400> 1666
000

<210> 1667

<400> 1667
000

<210> 1668

<400> 1668
000

<210> 1669

<400> 1669
000

<210> 1670

<400> 1670
000

<210> 1671

<400> 1671
000

<210> 1672

<400> 1672
000

<210> 1673

<400> 1673
000

<210> 1674

<400> 1674
000

<210> 1675

<400> 1675
000

<210> 1676

<400> 1676
000

<210> 1677

<400> 1677
000

<210> 1678

<400> 1678
000

<210> 1679

<400> 1679
000

<210> 1680

<400> 1680
000

<210> 1681

<400> 1681
000

<210> 1682

<400> 1682
000

<210> 1683

<400> 1683
000

<210> 1684

<400> 1684
000

<210> 1685

<400> 1685
000

<210> 1686

<400> 1686
000

<210> 1687

<400> 1687
000

<210> 1688

<400> 1688
000

<210> 1689

<400> 1689
000

<210> 1690

<400> 1690
000

<210> 1691

<400> 1691
000

<210> 1692

<400> 1692
000

<210> 1693

<400> 1693
000

<210> 1694

<400> 1694
000

<210> 1695

<400> 1695
000

<210> 1696

<400> 1696
000

<210> 1697

<400> 1697
000

<210> 1698

<400> 1698
000

<210> 1699

<400> 1699
000

<210> 1700

<400> 1700
000

<210> 1701

<400> 1701
000

<210> 1702

<400> 1702
000

<210> 1703

<400> 1703
000

<210> 1704

<400> 1704
000

<210> 1705

<400> 1705
000

<210> 1706

<400> 1706
000

<210> 1707

<400> 1707
000

<210> 1708

<400> 1708
000

<210> 1709

<400> 1709
000

<210> 1710

<400> 1710
000

<210> 1711

<400> 1711
000

<210> 1712

<400> 1712
000

<210> 1713

<400> 1713
000

<210> 1714

<400> 1714
000

<210> 1715

<400> 1715
000

<210> 1716

<400> 1716
000

<210> 1717

<400> 1717
000

<210> 1718

<400> 1718
000

<210> 1719

<400> 1719
000

<210> 1720

<400> 1720
000

<210> 1721

<400> 1721
000

<210> 1722

<400> 1722
000

<210> 1723

<400> 1723
000

<210> 1724

<400> 1724
000

<210> 1725

<400> 1725
000

<210> 1726

<400> 1726
000

<210> 1727

<400> 1727
000

<210> 1728

<400> 1728
000

<210> 1729

<400> 1729
000

<210> 1730

<400> 1730
000

<210> 1731

<400> 1731
000

<210> 1732

<400> 1732
000

<210> 1733

<400> 1733
000

<210> 1734

<400> 1734
000

<210> 1735

<400> 1735
000

<210> 1736

<400> 1736
000

<210> 1737

<400> 1737
000

<210> 1738

<400> 1738
000

<210> 1739

<400> 1739
000

<210> 1740

<400> 1740
000

<210> 1741

<400> 1741
000

<210> 1742

<400> 1742
000

<210> 1743

<400> 1743
000

<210> 1744

<400> 1744
000

<210> 1745

<400> 1745
000

<210> 1746

<400> 1746
000

<210> 1747

<400> 1747
000

<210> 1748

<400> 1748
000

<210> 1749

<400> 1749
000

<210> 1750

<400> 1750
000

<210> 1751

<400> 1751
000

<210> 1752

<400> 1752
000

<210> 1753

<400> 1753
000

<210> 1754

<400> 1754
000

<210> 1755

<400> 1755
000

<210> 1756

<400> 1756
000

<210> 1757

<400> 1757
000

<210> 1758

<400> 1758
000

<210> 1759

<400> 1759
000

<210> 1760

<400> 1760
000

<210> 1761

<400> 1761
000

<210> 1762

<400> 1762
000

<210> 1763

<400> 1763
000

<210> 1764

<400> 1764
000

<210> 1765

<400> 1765
000

<210> 1766

<400> 1766
000

<210> 1767

<400> 1767
000

<210> 1768

<400> 1768
000

<210> 1769

<400> 1769
000

<210> 1770

<400> 1770
000

<210> 1771

<400> 1771
000

<210> 1772

<400> 1772
000

<210> 1773

<400> 1773
000

<210> 1774

<400> 1774
000

<210> 1775

<400> 1775
000

<210> 1776

<400> 1776
000

<210> 1777

<400> 1777
000

<210> 1778

<400> 1778
000

<210> 1779

<400> 1779
000

<210> 1780

<400> 1780
000

<210> 1781

<400> 1781
000

<210> 1782

<400> 1782
000

<210> 1783

<400> 1783
000

<210> 1784

<400> 1784
000

<210> 1785

<400> 1785
000

<210> 1786

<400> 1786
000

<210> 1787

<400> 1787
000

<210> 1788

<400> 1788
000

<210> 1789

<400> 1789
000

<210> 1790

<400> 1790
000

<210> 1791

<400> 1791
000

<210> 1792

<400> 1792
000

<210> 1793

<400> 1793
000

<210> 1794

<400> 1794
000

<210> 1795

<400> 1795
000

<210> 1796

<400> 1796
000

<210> 1797

<400> 1797
000

<210> 1798

<400> 1798
000

<210> 1799

<400> 1799
000

<210> 1800

<400> 1800
000

<210> 1801

<400> 1801
000

<210> 1802

<400> 1802
000

<210> 1803

<400> 1803
000

<210> 1804

<400> 1804
000

<210> 1805

<400> 1805
000

<210> 1806

<400> 1806
000

<210> 1807

<400> 1807
000

<210> 1808

<400> 1808
000

<210> 1809

<400> 1809
000

<210> 1810

<400> 1810
000

<210> 1811

<400> 1811
000

<210> 1812

<400> 1812
000

<210> 1813

<400> 1813
000

<210> 1814

<400> 1814
000

<210> 1815

<400> 1815
000

<210> 1816

<400> 1816
000

<210> 1817

<400> 1817
000

<210> 1818

<400> 1818
000

<210> 1819

<400> 1819
000

<210> 1820

<400> 1820
000

<210> 1821

<400> 1821
000

<210> 1822

<400> 1822
000

<210> 1823

<400> 1823
000

<210> 1824

<400> 1824
000

<210> 1825

<400> 1825
000

<210> 1826

<400> 1826
000

<210> 1827

<400> 1827
000

<210> 1828

<400> 1828
000

<210> 1829

<400> 1829
000

<210> 1830

<400> 1830
000

<210> 1831

<400> 1831
000

<210> 1832

<400> 1832
000

<210> 1833

<400> 1833
000

<210> 1834

<400> 1834
000

<210> 1835

<400> 1835
000

<210> 1836

<400> 1836
000

<210> 1837

<400> 1837
000

<210> 1838

<400> 1838
000

<210> 1839

<400> 1839
000

<210> 1840

<400> 1840
000

<210> 1841

<400> 1841
000

<210> 1842

<400> 1842
000

<210> 1843

<400> 1843
000

<210> 1844

<400> 1844
000

<210> 1845

<400> 1845
000

<210> 1846

<400> 1846
000

<210> 1847

<400> 1847
000

<210> 1848

<400> 1848
000

<210> 1849

<400> 1849
000

<210> 1850

<400> 1850
000

<210> 1851

<400> 1851
000

<210> 1852

<400> 1852
000

<210> 1853

<400> 1853
000

<210> 1854

<400> 1854
000

<210> 1855

<400> 1855
000

<210> 1856

<400> 1856
000

<210> 1857

<400> 1857
000

<210> 1858

<400> 1858
000

<210> 1859

<400> 1859
000

<210> 1860

<400> 1860
000

<210> 1861

<400> 1861
000

<210> 1862

<400> 1862
000

<210> 1863

<400> 1863
000

<210> 1864

<400> 1864
000

<210> 1865

<400> 1865
000

<210> 1866

<400> 1866
000

<210> 1867

<400> 1867
000

<210> 1868

<400> 1868
000

<210> 1869

<400> 1869
000

<210> 1870

<400> 1870
000

<210> 1871

<400> 1871
000

<210> 1872

<400> 1872
000

<210> 1873

<400> 1873
000

<210> 1874

<400> 1874
000

<210> 1875

<400> 1875
000

<210> 1876

<400> 1876
000

<210> 1877

<400> 1877
000

<210> 1878

<400> 1878
000

<210> 1879

<400> 1879
000

<210> 1880

<400> 1880
000

<210> 1881

<400> 1881
000

<210> 1882

<400> 1882
000

<210> 1883

<400> 1883
000

<210> 1884

<400> 1884
000

<210> 1885

<400> 1885
000

<210> 1886

<400> 1886
000

<210> 1887

<400> 1887
000

<210> 1888

<400> 1888
000

<210> 1889

<400> 1889
000

<210> 1890

<400> 1890
000

<210> 1891

<400> 1891
000

<210> 1892

<400> 1892
000

<210> 1893

<400> 1893
000

<210> 1894

<400> 1894
000

<210> 1895

<400> 1895
000

<210> 1896

<400> 1896
000

<210> 1897

<400> 1897
000

<210> 1898

<400> 1898
000

<210> 1899

<400> 1899
000

<210> 1900

<400> 1900
000

<210> 1901

<400> 1901
000

<210> 1902

<400> 1902
000

<210> 1903

<400> 1903
000

<210> 1904

<400> 1904
000

<210> 1905

<400> 1905
000

<210> 1906

<400> 1906
000

<210> 1907

<400> 1907
000

<210> 1908

<400> 1908
000

<210> 1909

<400> 1909
000

<210> 1910

<400> 1910
000

<210> 1911

<400> 1911
000

<210> 1912

<400> 1912
000

<210> 1913

<400> 1913
000

<210> 1914

<400> 1914
000

<210> 1915

<400> 1915
000

<210> 1916

<400> 1916
000

<210> 1917

<400> 1917
000

<210> 1918

<400> 1918
000

<210> 1919

<400> 1919
000

<210> 1920

<400> 1920
000

<210> 1921

<400> 1921
000

<210> 1922

<400> 1922
000

<210> 1923

<400> 1923
000

<210> 1924

<400> 1924
000

<210> 1925

<400> 1925
000

<210> 1926

<400> 1926
000

<210> 1927

<400> 1927
000

<210> 1928

<400> 1928
000

<210> 1929

<400> 1929
000

<210> 1930

<400> 1930
000

<210> 1931

<400> 1931
000

<210> 1932

<400> 1932
000

<210> 1933

<400> 1933
000

<210> 1934

<400> 1934
000

<210> 1935

<400> 1935
000

<210> 1936

<400> 1936
000

<210> 1937

<400> 1937
000

<210> 1938

<400> 1938
000

<210> 1939

<400> 1939
000

<210> 1940

<400> 1940
000

<210> 1941

<400> 1941
000

<210> 1942

<400> 1942
000

<210> 1943

<400> 1943
000

<210> 1944

<400> 1944
000

<210> 1945

<400> 1945
000

<210> 1946

<400> 1946
000

<210> 1947

<400> 1947
000

<210> 1948

<400> 1948
000

<210> 1949

<400> 1949
000

<210> 1950

<400> 1950
000

<210> 1951

<400> 1951
000

<210> 1952

<400> 1952
000

<210> 1953

<400> 1953
000

<210> 1954

<400> 1954
000

<210> 1955

<400> 1955
000

<210> 1956

<400> 1956
000

<210> 1957

<400> 1957
000

<210> 1958

<400> 1958
000

<210> 1959

<400> 1959
000

<210> 1960

<400> 1960
000

<210> 1961

<400> 1961
000

<210> 1962

<400> 1962
000

<210> 1963

<400> 1963
000

<210> 1964

<400> 1964
000

<210> 1965

<400> 1965
000

<210> 1966

<400> 1966
000

<210> 1967

<400> 1967
000

<210> 1968

<400> 1968
000

<210> 1969

<400> 1969
000

<210> 1970

<400> 1970
000

<210> 1971

<400> 1971
000

<210> 1972

<400> 1972
000

<210> 1973

<400> 1973
000

<210> 1974

<400> 1974
000

<210> 1975

<400> 1975
000

<210> 1976

<400> 1976
000

<210> 1977

<400> 1977
000

<210> 1978

<400> 1978
000

<210> 1979

<400> 1979
000

<210> 1980

<400> 1980
000

<210> 1981

<400> 1981
000

<210> 1982

<400> 1982
000

<210> 1983

<400> 1983
000

<210> 1984

<400> 1984
000

<210> 1985

<400> 1985
000

<210> 1986

<400> 1986
000

<210> 1987

<400> 1987
000

<210> 1988

<400> 1988
000

<210> 1989

<400> 1989
000

<210> 1990

<400> 1990
000

<210> 1991

<400> 1991
000

<210> 1992

<400> 1992
000

<210> 1993

<400> 1993
000

<210> 1994

<400> 1994
000

<210> 1995

<400> 1995
000

<210> 1996

<400> 1996
000

<210> 1997

<400> 1997
000

<210> 1998

<400> 1998
000

<210> 1999

<400> 1999
000

<210> 2000

<400> 2000
000

<210> 2001
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2001
acauagaccu accuuaauca guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2002

<400> 2002
000

<210> 2003

<400> 2003
000

<210> 2004

<400> 2004
000

<210> 2005
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2005
ccuaucauac agugcuuaug guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2006

<400> 2006
000

<210> 2007
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2007
uagaccuacc uuaaucaugg guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2008
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2008
uacagagagu ccaauagccc guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2009

<400> 2009

000

<210> 2010

<400> 2010
000

<210> 2011

<400> 2011
000

<210> 2012

<400> 2012
000

<210> 2013

<400> 2013
000

<210> 2014
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2014
uacacuuugg gggauccaaa guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2015

<400> 2015
000

<210> 2016

<400> 2016
000

<210> 2017

<400> 2017
000

<210> 2018

<400> 2018
000

<210> 2019

<400> 2019
000

<210> 2020

<400> 2020
000

<210> 2021

<400> 2021
000

<210> 2022

<400> 2022
000

<210> 2023
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2023
uauuucuuuu agugccugua guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2024

<400> 2024
000

<210> 2025

<400> 2025
000

<210> 2026

<400> 2026
000

<210> 2027
<211> 102
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2027
cuuuuuauca gucccuaaau cuguuuuaga gcuagaaaua gcaaguuaaa auaaggcuag 60

uccguuauca acuugaaaaa guggcaccga gucggugcuu uu 102

<210> 2028

<400> 2028
000

<210> 2029

<400> 2029
000

<210> 2030

<400> 2030
000

<210> 2031

<400> 2031
000

<210> 2032
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2032
uuuagggacu gauaaagaua guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2033

<400> 2033
000

<210> 2034

<400> 2034
000

<210> 2035

<400> 2035
000

<210> 2036

<400> 2036
000

<210> 2037

<400> 2037
000

<210> 2038

<400> 2038
000

<210> 2039

<400> 2039
000

<210> 2040

<400> 2040
000

<210> 2041

<400> 2041
000

<210> 2042

<400> 2042
000

<210> 2043

<400> 2043
000

<210> 2044

<400> 2044
000

<210> 2045
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2045
ccuuaaucau gguggaaacu guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2046

<400> 2046
000

<210> 2047

<400> 2047
000

<210> 2048
<211> 99
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2048
gaaggugacu cugacuucug uuuuagagcu agaaauagca aguuaaaaua aggcuagucc 60

guuaucaacu ugaaaaagug gcaccgaguc ggugcuuuu 99

<210> 2049

<400> 2049
000

<210> 2050

<400> 2050
000

<210> 2051

<400> 2051
000

<210> 2052

<400> 2052
000

<210> 2053

<400> 2053
000

<210> 2054

<400> 2054
000

<210> 2055

<400> 2055
000

<210> 2056

<400> 2056
000

<210> 2057

<400> 2057
000

<210> 2058

<400> 2058
000

<210> 2059

<400> 2059
000

<210> 2060

<400> 2060
000

<210> 2061

<400> 2061
000

<210> 2062

<400> 2062
000

<210> 2063
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2063
cgguuuauua accccaagug guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2064

<400> 2064
000

<210> 2065

<400> 2065
000

<210> 2066

<400> 2066
000

<210> 2067
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2067
accgcgaugg gugagcccuc guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2068

<400> 2068
000

<210> 2069
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2069
accgcacgcu ucagugccuu guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2070

<400> 2070
000

<210> 2071
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2071
guguaaguau agccuccuga guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2072

<400> 2072
000

<210> 2073

<400> 2073
000

<210> 2074
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2074
ggaaaggcca gccccacuug guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2075

<400> 2075
000

<210> 2076
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2076
ugccacaaag cucgagccca guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2077
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2077
gguguaagua uagccuccug guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2078
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2078
uccugagggc ucacccaucg guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2079
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2079
aggaaaggcc agccccacuu guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2080
<400> 2080
000

<210> 2081
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 2081
gaggaaaggc cagccccacu guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 2082
<211> 100
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(20)
<223> 若存在，n可重複最多20次；若存在，n係a、c、g或u

<400> 2082
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種誘導*LDHA*基因內之雙鏈斷裂(DSB)或單鏈斷裂(SSB)之方法，其包括向細胞遞送一種組合物，其中該組合物包括：

a. 嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v. 包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b. RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸。

【第2項】

一種減小*LDHA*基因表現之方法，其包括向細胞遞送一種組合物，其中該組合物包括：

a. 嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v. 包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b. RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸。

【第3項】

一種治療或預防高草酸鹽尿症之方法，其包括向有需要之個體投與一種組合物，其中該組合物包括：

a. 嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v.包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b.RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸，

由此治療或預防高草酸鹽尿症。

【第4項】

一種治療或預防由高草酸鹽尿症引起之晚期腎病(ESRD)之方法，其包括向有需要之個體投與一種組合物，其中該組合物包括：

a.嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、

62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v.包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b.RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸，

由此治療或預防由高草酸鹽尿症引起之(ESRD)。

【第5項】

一種治療或預防草酸鈣產生及沈積、原發性高草酸鹽尿症、草酸鹽沈積症、血尿症中之任一者及延遲或改善腎或肝移植需要之方法，其包括向有需要之個體投與一種組合物，其中該組合物包括：

a.嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v.包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任

一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b. RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸，

由此治療或預防草酸鈣產生及沈積、原發性高草酸鹽尿症、草酸鹽沈積症、血尿症中之任一者及延遲或改善腎或肝移植需要。

【第6項】

一種增加血清羥基乙酸鹽濃度之方法，其包括向有需要之個體投與一種組合物，其中該組合物包括：

a. 嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v. 包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、

48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b.RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸，

由此增加血清羥基乙酸鹽濃度。

【第7項】

一種減少個體之尿中之草酸鹽之方法，其包括向有需要之個體投與一種組合物，其中該組合物包括：

a. 嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v. 包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、

48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b.RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸，

由此減少個體之尿中之草酸鹽。

【第8項】

如前述請求項中任一項之方法，其中投與RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸。

【第9項】

一種組合物，其包括：

a. 嚮導RNA，其包括

i. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列；或

ii. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

iii. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列；或

iv. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者之嚮導序列；或

v.包括SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者之嚮導序列；或

vi. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者之嚮導序列；或

vii. 包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者之嚮導序列；及視情況

b. RNA引導之DNA結合劑或編碼RNA引導之DNA結合劑之核酸。

【第10項】

一種組合物，其包括含有以下之短單嚮導RNA (短-sgRNA)：

i. 嚮導序列，其包括：

1. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列中之任一者；或

2. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列中之任一者之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

3. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致；或

4. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者；或

5. SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者；或

6. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者；或

7. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者；及

ii. 包括髮夾區之sgRNA之保守部分，其中該髮夾區缺失至少5至10個核苷酸且視情況其中該短-sgRNA包括5’端修飾及3’端修飾中之一或多者。

【第11項】

如請求項10之組合物，其包括SEQ ID NO: 202之序列。

【第12項】

如請求項10或11之組合物，其包括5’端修飾。

【第13項】

如請求項10至12中任一項之組合物，其中該短-sgRNA包括3’端修飾。

【第14項】

如請求項10至13中任一項之組合物，其中該短-sgRNA包括5’端修飾及3’端修飾。

【第15項】

如請求項10至14中任一項之組合物，其中該短-sgRNA包括3’尾部。

【第16項】

如請求項15之組合物，其中該3’尾部包括1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸。

【第17項】

如請求項15之組合物，其中該3’尾部包括約1至2、1至3、1至4、1至5、1至7、1至10、至少1至2、至少1至3、至少1至4、至少1至5、至少1至7或至少1至10個核苷酸。

【第18項】

如請求項10至17中任一項之組合物，其中該短-sgRNA不包括3’尾部。

【第19項】

如請求項10至18中任一項之組合物，其包括該髮夾區中之修飾。

【第20項】

如請求項10至19中任一項之組合物，其包括3’端修飾及該髮夾區中之修飾。

【第21項】

如請求項10至20中任一項之組合物，其包括3’端修飾、該髮夾區中之修飾及5’端修飾。

【第22項】

如請求項10至21中任一項之組合物，其包括5’端修飾及該髮夾區中之修飾。

【第23項】

如請求項10至22中任一項之組合物，其中該髮夾區缺失至少5個連續核苷酸。

【第24項】

如請求項10至23中任一項之組合物，其中該至少5至10個缺失的核苷酸：

a. 位於髮夾1內；

b. 位於髮夾1內且包含髮夾1與髮夾2之間之「N」；

c. 位於髮夾1內且包含緊接髮夾1之3’的兩個核苷酸；

d. 包含髮夾1之至少一部分；

e. 位於髮夾2內；

f. 包含髮夾2之至少一部分；

g. 位於髮夾1及髮夾2內；

h. 包含髮夾1之至少一部分且包含髮夾1與髮夾2之間之「N」；

i. 包含髮夾2之至少一部分且包含髮夾1與髮夾2之間之「N」；

j. 包含髮夾1之至少一部分，包含髮夾1與髮夾2之間之「N」且包含髮夾2之至少一部分；

k. 位於髮夾1或髮夾2內，視情況包含髮夾1與髮夾2之間之「N」；

l. 係連續的；

m. 係連續的且包含髮夾1與髮夾2之間之「N」；

n. 係連續的且跨越髮夾1之至少一部分及髮夾2之一部分；

o. 係連續的且跨越髮夾1之至少一部分及髮夾1與髮夾2之間之「N」；

p. 係連續的且跨越髮夾1之至少一部分及緊接髮夾1之3’之兩個核苷酸；

q. 由5至10個核苷酸組成；

r. 由6至10個核苷酸組成；

s. 由5至10個連續核苷酸組成；

t. 由6至10個連續核苷酸組成；或

u. 由SEQ ID NO: 400之核苷酸54至58組成。

【第25項】

如請求項10至24中任一項之組合物，其包括含有連接區之sgRNA之保守部分，其中該連接區缺失至少一個核苷酸。

【第26項】

如請求項25之組合物，其中該連接區中缺失之該等核苷酸包括以下中之任一者或多者：

a. 該連接區中之至少2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸；

b. 該連接區中之至少或確切地1至2個核苷酸、1至3個核苷酸、1至4個核苷酸、1至5個核苷酸、1至6個核苷酸、1至10個核苷酸或1至15個核

苷酸；及

c. 該連接區中之每一核苷酸。

【第27項】

一種組合物，其包括含有以下之經修飾單嚮導RNA (sgRNA)：

a. 嚮導序列，其包括：

1. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列中之任一者；或

2. 選自SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列中之任一者之至少17、18、19或20個鄰接核苷酸；或

3. 與選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致；或

4. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80中之任一者；或

5. SEQ ID No: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48中之任一者；或

6. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者；或

7. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者；且進一步包括

b. 一或多個選自以下之修飾：

1. 位於一或多個嚮導區YA位點處之YA修飾；

2. 位於一或多個保守區YA位點處之YA修飾；

3. 位於一或多個嚮導區YA位點處及一或多個保守區YA位點處之YA

修飾；

4.i)位於兩個或更多個鄰導區YA位點處之YA修飾；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

iii)位於保守區YA位點1及8中之一或多者處之YA修飾；或

5.i)位於一或多個鄰導區YA位點處之YA修飾，其中該鄰導區YA位點位於5’末端之5’端之核苷酸8處或其後；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及視情況；

iii)位於保守區YA位點1及8中之一或多者處之YA修飾；或

6.i)位於一或多個鄰導區YA位點處之YA修飾，其中該鄰導區YA位點位於該鄰導區之3’末端核苷酸之13個核苷酸內；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

iii)位於保守區YA位點1及8中之一或多者處之YA修飾；或

7.i) 5’端修飾及3’端修飾；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

iii)位於保守區YA位點1及8中之一或多者處之YA修飾；或

8.i)位於鄰導區YA位點處之YA修飾，其中該鄰導區YA位點之該修飾包括位於該鄰導區YA位點之5’處之至少一個核苷酸所不包括之修飾；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

iii)位於保守區YA位點1及8中之一或多者處之YA修飾；或

9.i)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

ii)位於保守區YA位點1及8處之YA修飾；或

10. i)位於一或多個鄰導區YA位點處之YA修飾，其中該YA位點位

於5’末端之核苷酸8處或其後；

ii)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；及

iii)位於H1-1及H2-1中之一或多者處之修飾；或

11. i)位於保守區YA位點2、3、4及10中之一或多者處之YA修飾；ii)位於保守區YA位點1、5、6、7、8及9中之一或多者處之YA修飾；及iii)位於H1-1及H2-1中之一或多者處之修飾；或

12. i)位於一或多個位於5’末端之核苷酸6處或其後之核苷酸處之修飾，例如YA修飾；

ii)位於一或多個嚮導序列YA位點處之YA修飾；

iii)位於B3、B4及B5中之一或多者處之修飾，其中B6不包括2’-OMe修飾或包括除2’-OMe外之修飾；

iv)位於LS10處之修飾，其中LS10包括除2’-氟外之修飾；及/或

v)位於N2、N3、N4、N5、N6、N7、N10或N11處之修飾；且

其中下列中之至少一者係真實的：

a. 位於一或多個嚮導區YA位點處之YA修飾；

b. 位於一或多個保守區YA位點處之YA修飾；

c. 位於一或多個嚮導區YA位點處及一或多個保守區YA位點處之YA修飾；

d. 5’末端之5’端之核苷酸8至11、13、14、17或18中之至少一者不包括2’-氟修飾；

e. 5’末端之5’端之核苷酸6至10中之至少一者不包括硫代磷酸酯鍵聯；

f. B2、B3、B4或B5中之至少一者不包括2’-OMe修飾；

g.LS1、LS8或LS10中之至少一者不包括2’-OMe修飾；

h.N2、N3、N4、N5、N6、N7、N10、N11、N16或N17中之至少一者不包括2’-OMe修飾；

i. H1-1包括修飾；

j. H2-1包括修飾；或

k.H1-2、H1-3、H1-4、H1-5、H1-6、H1-7、H1-8、H1-9、H1-10、H2-1、H2-2、H2-3、H2-4、H2-5、H2-6、H2-7、H2-8、H2-9、H2-10、H2-11、H2-12、H2-13、H2-14或H2-15中之至少一者不包括硫代磷酸酯鍵聯。

【第28項】

如請求項27之組合物，其包括SEQ ID NO: 450。

【第29項】

如請求項9至28中任一項之組合物，其用於誘導細胞或個體中之*LDHA*基因內之雙鏈斷裂(DSB)或單鏈斷裂(SSB)。

【第30項】

如請求項9至28中任一項之組合物，其用於減小細胞或個體中之*LDHA*基因表現。

【第31項】

如請求項9至28中任一項之組合物，其用於治療或預防個體之高草酸鹽尿症。

【第32項】

如請求項9至28中任一項之組合物，其用於增加個體中之血清及/或血漿羥基乙酸鹽濃度。

【第33項】

如請求項9至28中任一項之組合物，其用於減小個體中之尿草酸鹽濃度。

【第34項】

如請求項9至28中任一項之組合物，其用於治療或預防草酸鹽產生、器官中草酸鈣沈積、原發性高草酸鹽尿症、草酸鹽沈積症(包含全身性草酸鹽沈積症)、血尿症、晚期腎病(ESRD)及/或延遲或改善腎或肝移植需要。

【第35項】

如請求項1至8中任一項之方法，其進一步包括：

a. 誘導細胞或個體中之*LDHA*基因內之雙鏈斷裂(DSB)；

b. 減小細胞或個體中之*LDHA*基因表現；

c. 治療或預防個體之高草酸鹽尿症；

d. 治療或預防個體之原發性高草酸鹽尿症；

e. 治療或預防個體之PH1、PH2及/或PH3；

f. 治療或預防個體之腸高草酸鹽尿症；

g. 治療或預防個體之與食用高草酸鹽食物相關之高草酸鹽尿症；

h. 增加個體中之血清及/或血漿羥基乙酸鹽濃度；

i. 減小個體中之尿草酸鹽濃度；

j. 減小草酸鹽產生；

k. 減小器官中之草酸鈣沈積；

l. 減少高草酸鹽尿症；

m. 治療或預防草酸鹽沈積症，包含全身性草酸鹽沈積症；

n. 治療或預防血尿症；

o. 預防晚期腎病(ESRD)；及/或

p. 延遲或改善腎或肝移植需要。

【第36項】

如請求項1至8或29至35中任一項所用之方法或組合物，其中該組合物增加血清及/或血漿羥基乙酸鹽含量。

【第37項】

如請求項1至8或29至35中任一項所用之方法或組合物，其中該組合物引起該*LDHA*基因之編輯。

【第38項】

如請求項37所用之方法或組合物，其中該編輯計算為經編輯群體之百分比(編輯百分比)。

【第39項】

如請求項38所用之方法或組合物，其中該編輯百分比介於該群體之30%與99%之間。

【第40項】

如請求項38所用之方法或組合物，其中該編輯百分比介於該群體之30%與35%、35%與40%、40%與45%、45%與50%、50%與55%、55%與60%、60%與65%、65%與70%、70%與75%、75%與80%、80%與85%、85%與90%、90%與95%或95%與99%之間。

【第41項】

如請求項1至8或29至35中任一項所用之方法或組合物，其中該組合物減小尿草酸鹽濃度。

【第42項】

如請求項41所用之方法或組合物，其中減少尿草酸鹽降低腎結石及/或腎、肝、膀胱、心臟、皮膚或眼睛中之草酸鈣沈積。

【第43項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列係選自

a. SEQ ID NO:1-84及100-192；

b. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80；

c. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48；

d. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184；及

e. SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123。

【第44項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中該組合物包括含有以下之sgRNA：

a. SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081中之任一者；或

b. SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081中之任一者；或

c. 選自SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78及80之嚮導序列；或

c. 選自SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45及48之嚮導序列；

d. 選自SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184之嚮導序列；及

e. 選自SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123之嚮導序列。

【第45項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中靶序列位於人類*LDHA*基因之外顯子1至8中之任一者中。

【第46項】

如請求項45之方法或組合物，其中該靶序列位於該人類*LDHA*基因之外顯子1或2中。

【第47項】

如請求項45之方法或組合物，其中該靶序列位於該人類*LDHA*基因之外顯子3中。

【第48項】

如請求項45之方法或組合物，其中該靶序列位於該人類*LDHA*基因之外顯子4中。

【第49項】

如請求項45之方法或組合物，其中該靶序列位於該人類*LDHA*基因之

外顯子5或6中。

【第50項】

如請求項45之方法或組合物，其中該靶序列位於該人類*LDHA*基因之外顯子7或8中。

【第51項】

如請求項1至50中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列與*LDHA*之正鏈中之靶序列互補。

【第52項】

如請求項1至50中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列與*LDHA*之負鏈中之靶序列互補。

【第53項】

如請求項1至50中任一項之方法或組合物，其中第一嚮導序列與該*LDHA*基因之正鏈中之第一靶序列互補，且其中該組合物進一步包括與該*LDHA*基因之負鏈中之第二靶序列互補之第二嚮導序列。

【第54項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA包括選自SEQ ID NO: 1-84及100-192中之任一者之嚮導序列且進一步包括SEQ ID NO: 200之核苷酸序列，其中SEQ ID NO: 200之核苷酸接在該嚮導序列之3’端之後。

【第55項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA包括選自SEQ ID NO: 1-84及100-192中之任一者之嚮導序列且進一步包括SEQ ID NO: 201、SEQ ID NO: 202、SEQ ID NO: 203或SEQ ID NO: 400-450中

之任一者之核苷酸序列，其中SEQ ID NO: 201之核苷酸接在該嚮導序列之3’端之後。

【第56項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係單嚮導(sgRNA)。

【第57項】

如請求項56之方法或組合物，其中該sgRNA包括含有SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081中之任一者之嚮導序列。

【第58項】

如請求項56之方法或組合物，其中該sgRNA包括SEQ ID NO: 1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079及1081中之任一者或其經修飾形式，視情況其中該等經修飾形式包括SEQ ID NO: 2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081。

【第59項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中根據SEQ ID NO: 300之模式來修飾該嚮導RNA，其中N共同地係表1之嚮導序列中任一者(SEQ ID NO 1-84及100-192)。

【第60項】

如請求項59之方法或組合物，其中SEQ ID NO: 300中之每一N係任

一天然或非天然核苷酸，其中該等N形成該嚮導序列，且該嚮導序列使Cas9靶向該*LDHA*基因。

【第61項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中該sgRNA包括SEQ ID NO:1-84及100-192之嚮導序列及SEQ ID NO: 201、SEQ ID NO: 202或SEQ ID NO: 203之核苷酸中之任一者。

【第62項】

如請求項56至61中任一項之方法或組合物，其中該sgRNA包括與選自SEQ ID NO: 1-84及100-192之序列至少99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%或90%一致之嚮導序列。

【第63項】

如請求項62之方法或組合物，其中該sgRNA包括選自SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、1001、1005、1007、1008、1014、1023、1027、1032、1045、1048、1063、1067、1069、1071、1074、1076、1077、1078、1079、1081、2001、2005、2007、2008、2014、2023、2027、2032、2045、2048、2063、2067、2069、2071、2074、2076、2077、2078、2079及2081之序列。

【第64項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA包括至少一種修飾。

【第65項】

如請求項64之方法或組合物，其中該至少一種修飾包含經2'-O-甲基

(2’-O-Me)修飾之核苷酸。

【第66項】

如請求項64或65之方法或組合物，其包括核苷酸之間之硫代磷酸酯(PS)鍵。

【第67項】

如請求項64至66中任一項之方法或組合物，其包括經2’-氟(2’-F)修飾之核苷酸。

【第68項】

如請求項64至67中任一項之方法或組合物，其包括位於該嚮導RNA之5’端處之前5個核苷酸中之一或多者處之修飾。

【第69項】

如請求項64至68中任一項之方法或組合物，其包括位於該嚮導RNA之3’端處之後5個核苷酸中之一或多者處之修飾。

【第70項】

如請求項64至69中任一項之方法或組合物，其包括位於該嚮導RNA之前4個核苷酸之間之PS鍵。

【第71項】

如請求項64至70中任一項之方法或組合物，其包括位於該嚮導RNA之後4個核苷酸之間之PS鍵。

【第72項】

如請求項64至71中任一項之方法或組合物，其包括位於該嚮導RNA之5’端之前三個核苷酸處之經2’-O-Me修飾之核苷酸。

【第73項】

如請求項64至72中任一項之方法或組合物，其包括位於該嚮導RNA之3’端之後三個核苷酸處之經2’-O-Me修飾之核苷酸。

【第74項】

如請求項64至73中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA包括SEQ ID NO: 300之經修飾核苷酸。

【第75項】

如請求項1至74中任一項之方法或組合物，其中該組合物進一步包括醫藥上可接受之賦形劑。

【第76項】

如請求項1至75中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA與脂質奈米顆粒(LNP)締合。

【第77項】

如請求項76之方法或組合物，其中該LNP包括陽離子脂質。

【第78項】

如請求項77之方法或組合物，其中該陽離子脂質係(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯酸3-((4,4-雙(辛基氧基)丁醯基)氧基)-2-((((3-(二乙基胺基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙酯((9Z,12Z)-3-((4,4-bis(octyloxy)butanoyl)oxy)-2-((((3-(diethylamino)propoxy)carbonyl)oxy)methyl)propyl octadeca-9,12-dienoate，亦稱為3-((4,4-bis(octyloxy)butanoyl)oxy)-2-((((3-(diethylamino)propoxy)carbonyl)oxy)methyl)propyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate)。

【第79項】

如請求項76至78中任一項之方法或組合物，其中該LNP包括中性脂

質。

【第80項】

如請求項79之方法或組合物，其中該中性脂質係DSPC。

【第81項】

如請求項76至80中任一項之方法或組合物，其中該LNP包括輔助脂質。

【第82項】

如請求項81之方法或組合物，其中該輔助脂質係膽固醇。

【第83項】

如請求項76至82中任一項之方法或組合物，其中該LNP包括隱形脂質。

【第84項】

如請求項83之方法或組合物，其中該隱形脂質係PEG2k-DMG。

【第85項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中該組合物進一步包括RNA引導之DNA結合劑。

【第86項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中該組合物進一步包括編碼RNA引導之DNA結合劑之mRNA。

【第87項】

如請求項85或86之方法或組合物，其中該RNA引導之DNA結合劑係Cas9。

【第88項】

如前述請求項中任一項之方法或組合物，其中該組合物係醫藥調配物且進一步包括醫藥上可接受之載劑。

【第89項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 1。

【第90項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 2。

【第91項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 3。

【第92項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 4。

【第93項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 5。

【第94項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 6。

【第95項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 7。

【第96項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 8。

【第97項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 9。

【第98項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 10。

【第99項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 11。

【第100項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 12。

【第101項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 13。

【第102項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 14。

【第103項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID

NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 15。

【第104項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 16。

【第105項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 17。

【第106項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 18。

【第107項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 19。

【第108項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 20。

【第109項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 21。

【第110項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 22。

【第111項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 23。

【第112項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 24。

【第113項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 25。

【第114項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 26。

【第115項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 27。

【第116項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 28。

【第117項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 29。

【第118項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 30。

【第119項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 31。

【第120項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 32。

【第121項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 33。

【第122項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 34。

【第123項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 35。

【第124項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 36。

【第125項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 37。

【第126項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID

NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 38。

【第127項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 39。

【第128項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 40。

【第129項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 41。

【第130項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 42。

【第131項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 43。

【第132項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 44。

【第133項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 45。

【第134項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 46。

【第135項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 47。

【第136項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 48。

【第137項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 49。

【第138項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 50。

【第139項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 51。

【第140項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 52。

【第141項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 53。

【第142項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 54。

【第143項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 55。

【第144項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 56。

【第145項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 57。

【第146項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 58。

【第147項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 59。

【第148項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 60。

【第149項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID

NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 61。

【第150項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 62。

【第151項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 63。

【第152項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 64。

【第153項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 65。

【第154項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 66。

【第155項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 67。

【第156項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 68。

【第157項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 69。

【第158項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 70。

【第159項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 71。

【第160項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 72。

【第161項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 73。

【第162項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 74。

【第163項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 75。

【第164項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 76。

【第165項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 77。

【第166項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 78。

【第167項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 79。

【第168項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 80。

【第169項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 81。

【第170項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 82。

【第171項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 83。

【第172項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID

NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 84。

【第173項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 103。

【第174項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 109。

【第175項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 123。

【第176項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 133。

【第177項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 149。

【第178項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 156。

【第179項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該選自SEQ ID NO:1-84及100-192之序列係SEQ ID NO: 166。

【第180項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列包括SEQ ID NO: 2、9、13、16、22、24、25、27、30、31、32、33、35、36、40、44、45、53、55、57、60、61-63、65、67、69、70、71、73、76、78、79、80、82-84、103、109、123、133、149、156及166中之任一者。

【第181項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列包括SEQ ID NO: 100-102、104-108、110-122、124-132、134-148、150-155、157-165及167-192中之任一者。

【第182項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、62、66、68、70、73、75、76、77、78、80、103、109、123、133、149、153、156及184中之任一者。

【第183項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導序列包括SEQ ID NO: 1、5、7、8、14、23、25、27、32、45、48、103及123中之任一者。

【第184項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 86-90中之任一者之sgRNA。

【第185項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括

SEQ ID NO: 89之sgRNA。

【第186項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1001或2001之sgRNA。

【第187項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1005或2005之sgRNA。

【第188項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1007或2007之sgRNA。

【第189項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1008或2008之sgRNA。

【第190項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1014或2014之sgRNA。

【第191項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1023或2023之sgRNA。

【第192項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1027或2027之sgRNA。

【第193項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1032或2032之sgRNA。

【第194項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1045或2045之sgRNA。

【第195項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1048或2048之sgRNA。

【第196項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1063或2063之sgRNA。

【第197項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1067或2067之sgRNA。

【第198項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1069或2069之sgRNA。

【第199項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1071或2071之sgRNA。

【第200項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1074或2074之sgRNA。

【第201項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1076或2076之sgRNA。

【第202項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1077或2077之sgRNA。

【第203項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1078或2078之sgRNA。

【第204項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1079或2079之sgRNA。

【第205項】

如請求項1至88中任一項之方法或組合物，其中該嚮導RNA係包括SEQ ID NO: 1081或2081之sgRNA。

【第206項】

如請求項1至205中任一項之方法或組合物，其中該組合物係以單一劑量形式來投與。

【第207項】

如請求項1至206中任一項之方法或組合物，其中一次性投與該組合物。

【第208項】

如請求項206或207中任一項之方法或組合物，其中該單一劑量或一

次性投與：

a. 誘導DSB；及/或

b. 減小LDHA基因表現；及/或

c. 治療或預防高草酸鹽尿症；及/或

d. 治療或預防由高草酸鹽尿症引起之ESRD；及/或

e. 治療或預防草酸鈣產生及沈積；及/或

f. 治療或預防原發性高草酸鹽尿症(包含PH1、PH2及PH3)；及/或

g. 治療或預防草酸鹽沈積症；及/或

h. 治療及預防血尿症；及/或

i. 治療或預防腸高草酸鹽尿症；及/或

j. 治療或預防與食用高草酸鹽食物相關之高草酸鹽尿症；及/或

k. 延遲或改善腎或肝移植需要；及/或

l. 增加血清羥基乙酸鹽濃度；及/或

m. 減少尿中之草酸鹽。

【第209項】

如請求項208之方法或組合物，其中該單一劑量或一次性投與達成a)至m)中之任一者或多者達3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15週。

【第210項】

如請求項208之方法或組合物，其中該單一劑量或一次性投與達成持久效應。

【第211項】

如請求項1至208中任一項之方法或組合物，其進一步包括達成持久

效應。

【第212項】

如請求項210或211之方法或組合物，其中該持久效應持續至少1個月、至少3個月、至少6個月、至少一年或至少5年。

【第213項】

如請求項1至212中任一項之方法或組合物，其中投與該組合物使得尿中之草酸鹽治療相關地減少。

【第214項】

如請求項1至213中任一項之方法或組合物，其中投與該組合物使得尿草酸鹽含量在治療範圍內。

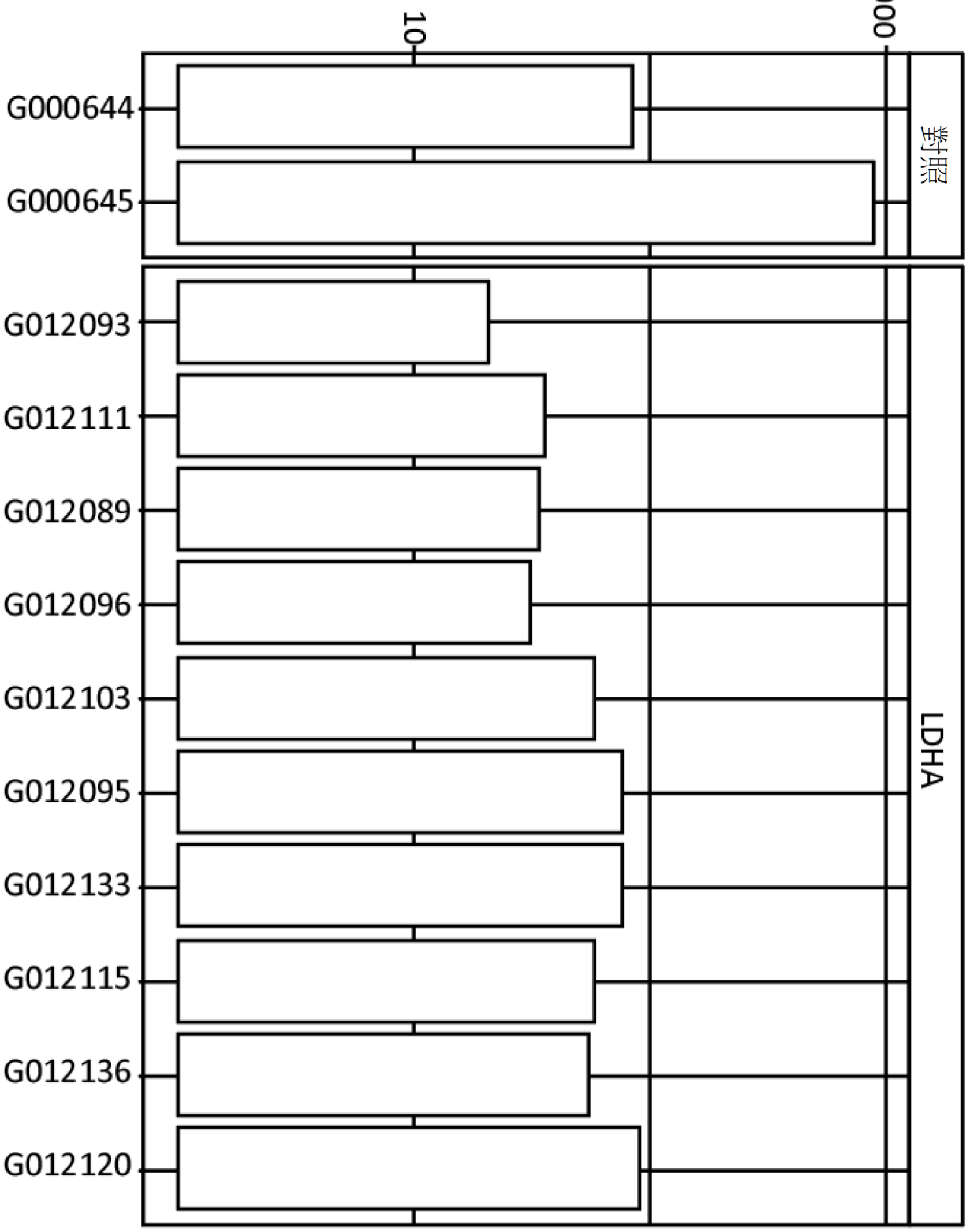
【第215項】

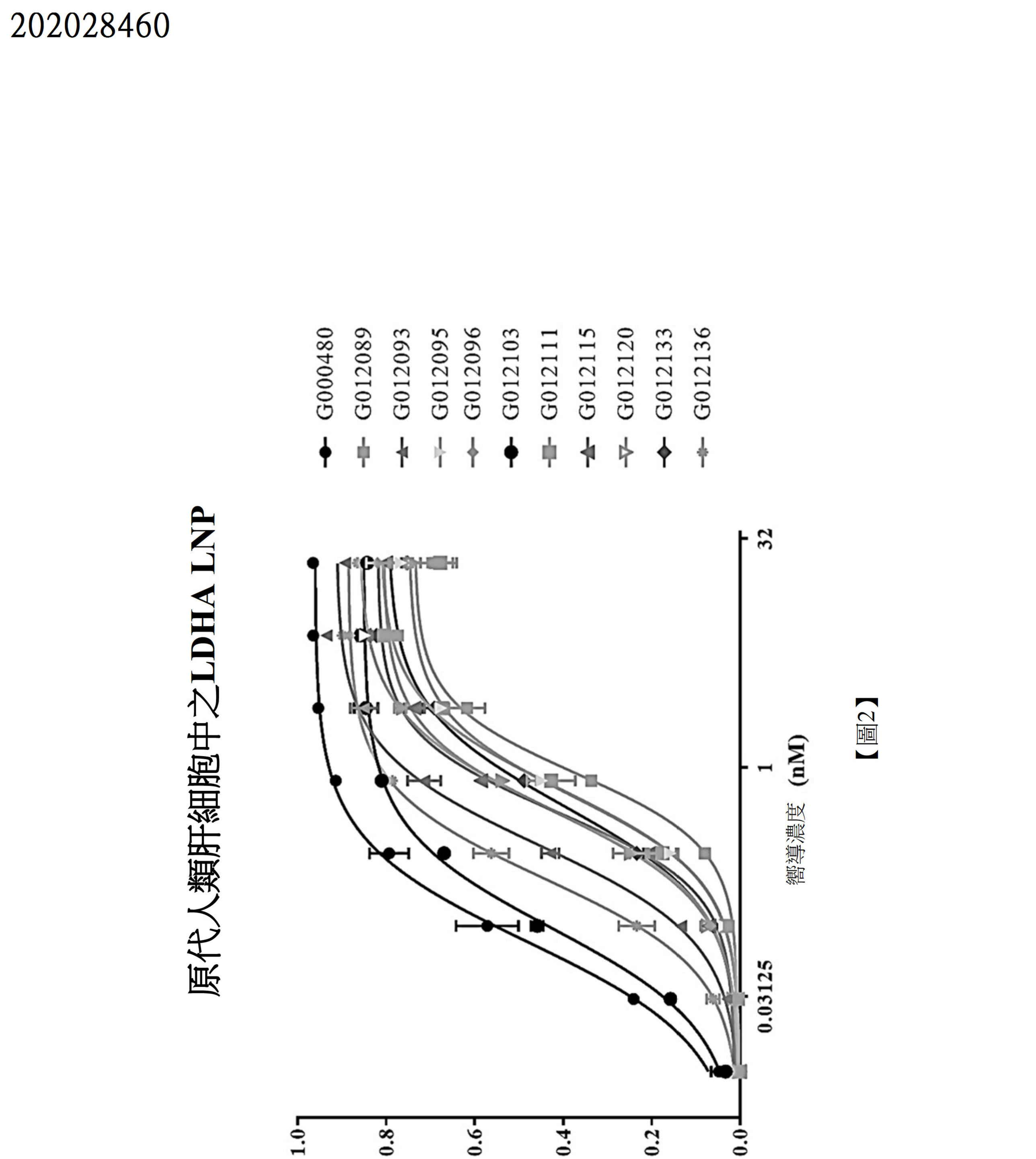
如請求項1至214中任一項之方法或組合物，其中投與該組合物使得草酸鹽含量在正常範圍之100%、120%或150%內。

【第216項】

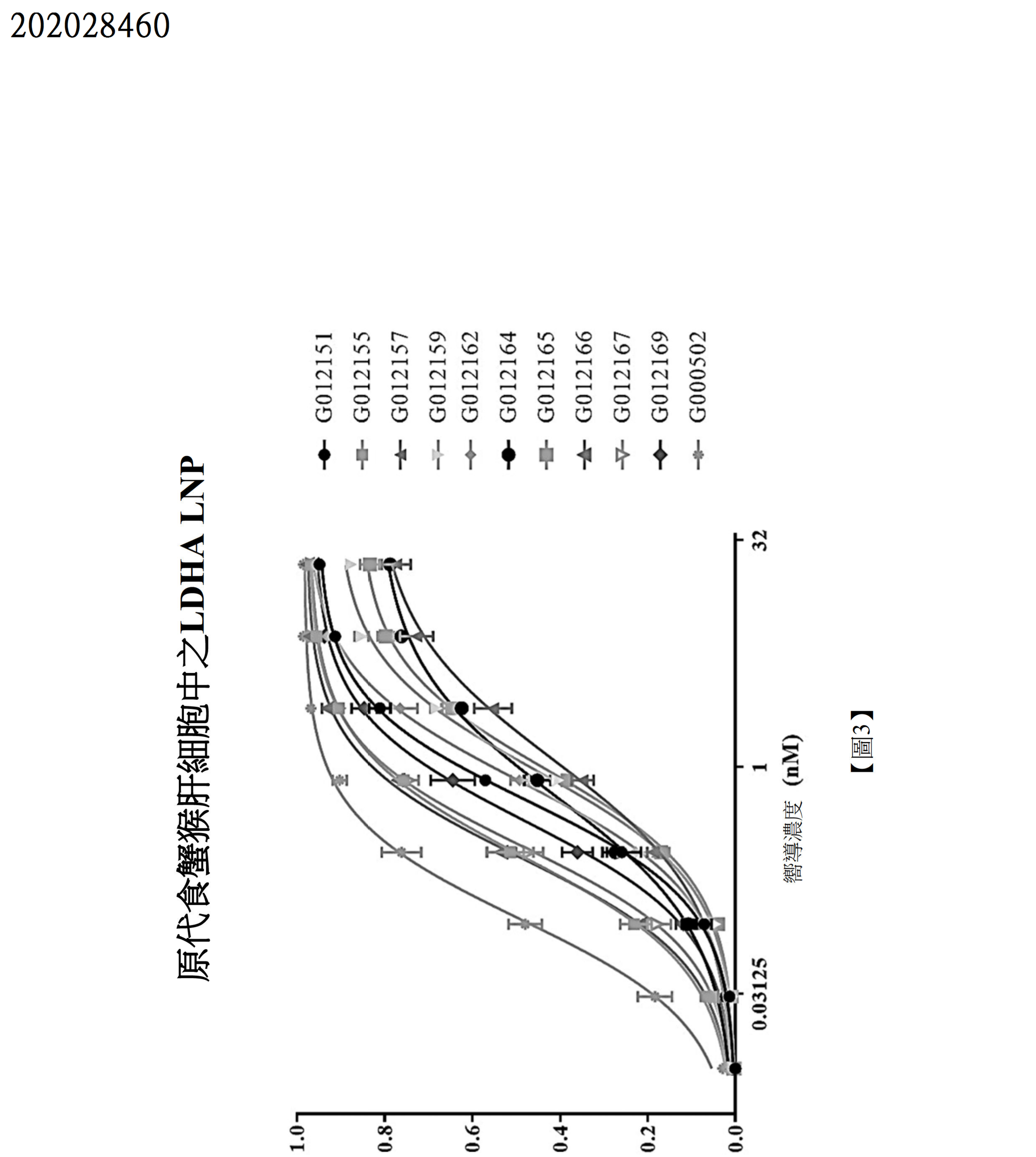
一種如請求項9至215中任一項之組合物或調配物之用途，其用以製備用於治療患有高草酸鹽尿症之人類個體之藥劑。

【圖1】

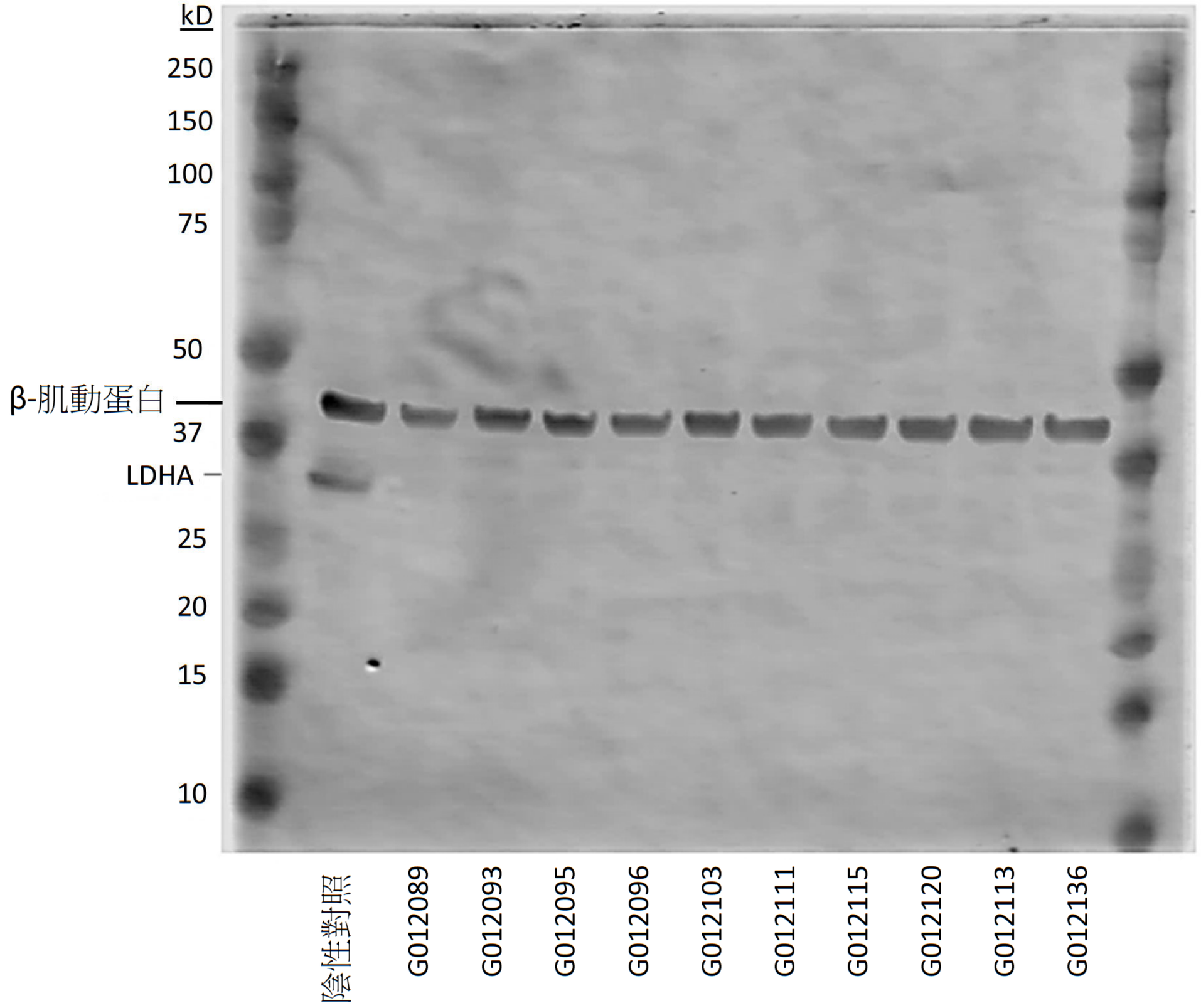

脫靶位點數
100
1000
G000644
G000645
G012093
G012111
G012089
G012096
G012103
G012095
G012133
G012115
G012136
G012120
對照
LDHA


原代人類肝細胞中之LDHA LNP
插入缺失頻率
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.03125
1
32
響導濃度 (nM)
G000480
G012089
G012093
G012095
G012096
G012103
G012111
G012115
G012120
G012133
G012136

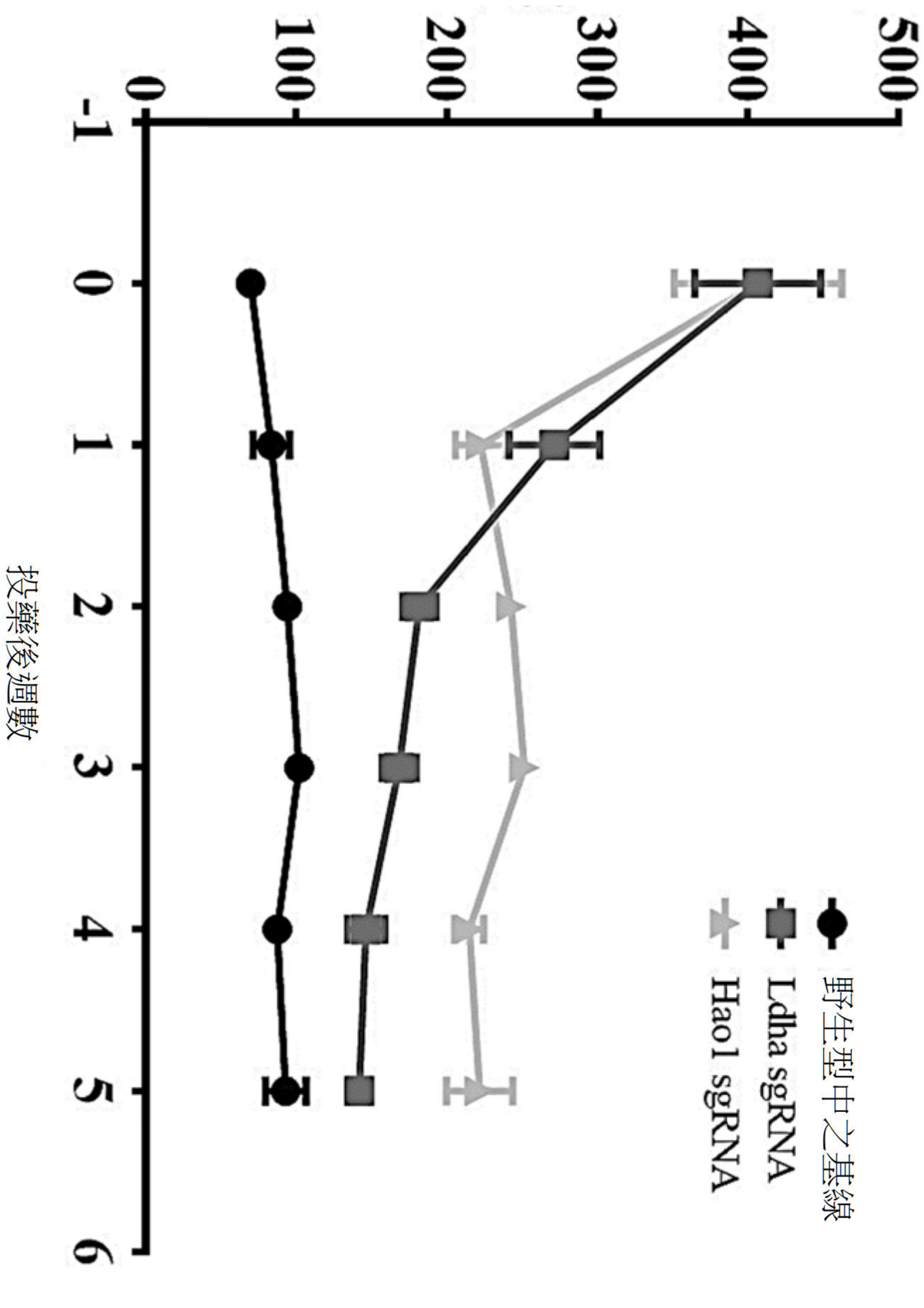
【圖2】


原代食蟹猴肝細胞中之LDHA LNP
插入缺失頻率
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.03125
1
32
嚮導濃度 (nM)
G012151
G012155
G012157
G012159
G012162
G012164
G012165
G012166
G012167
G012169
G000502

【圖3】

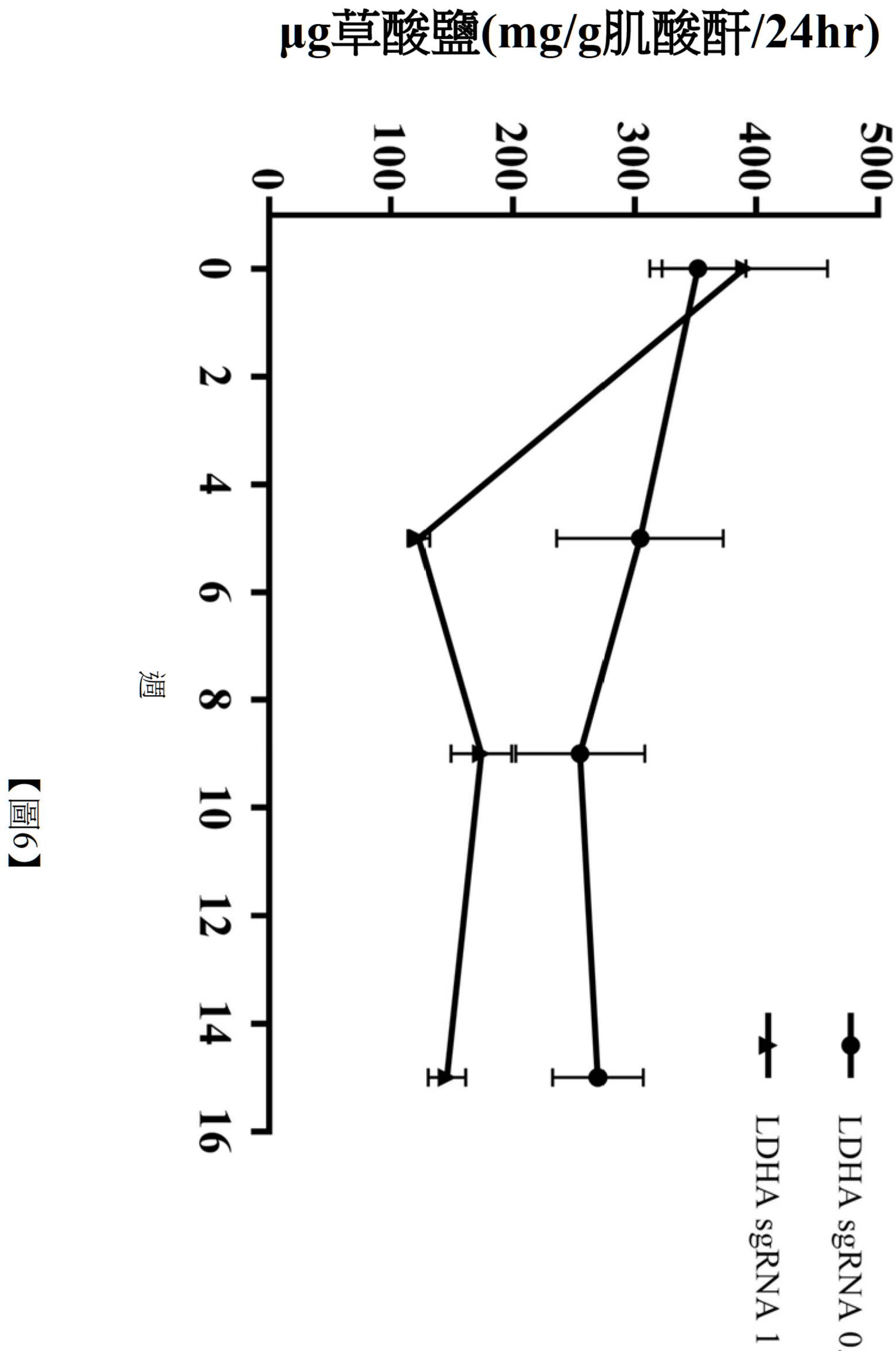

kD
250
150
100
75
50
β-肌動蛋白
37
LDHA
25
20
15
10
陰性對照
G012089
G012093
G012095
G012096
G012103
G012111
G012115
G012120
G012113
G012136

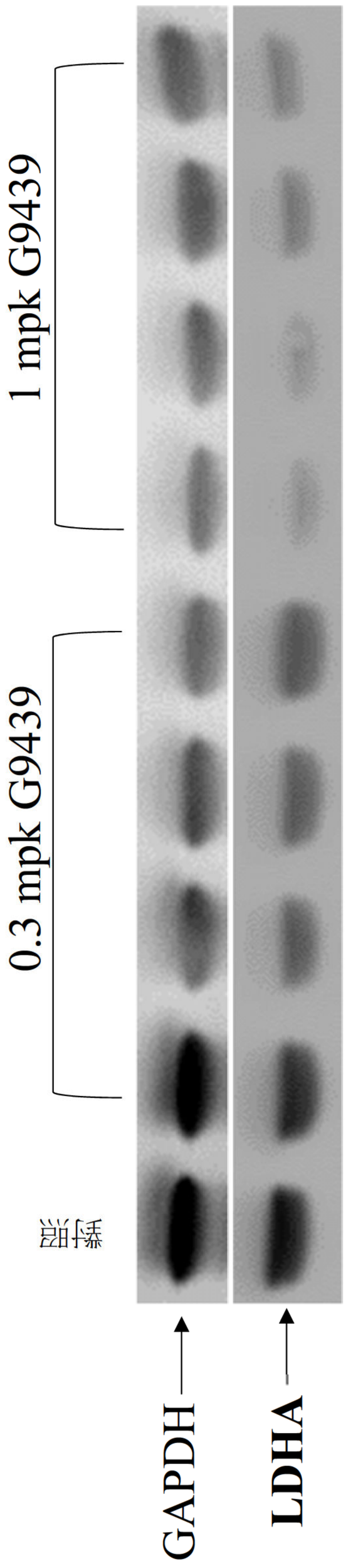
【圖4】


尿草酸鹽(mg/g肌酸酐/24hr)
10
20
30
40
50
0
0
0
0
0
-1
0
1
2
3
4
5
6
投藥後週數
野生型中之基線
Ldha sgRNA
Hao1 sgRNA

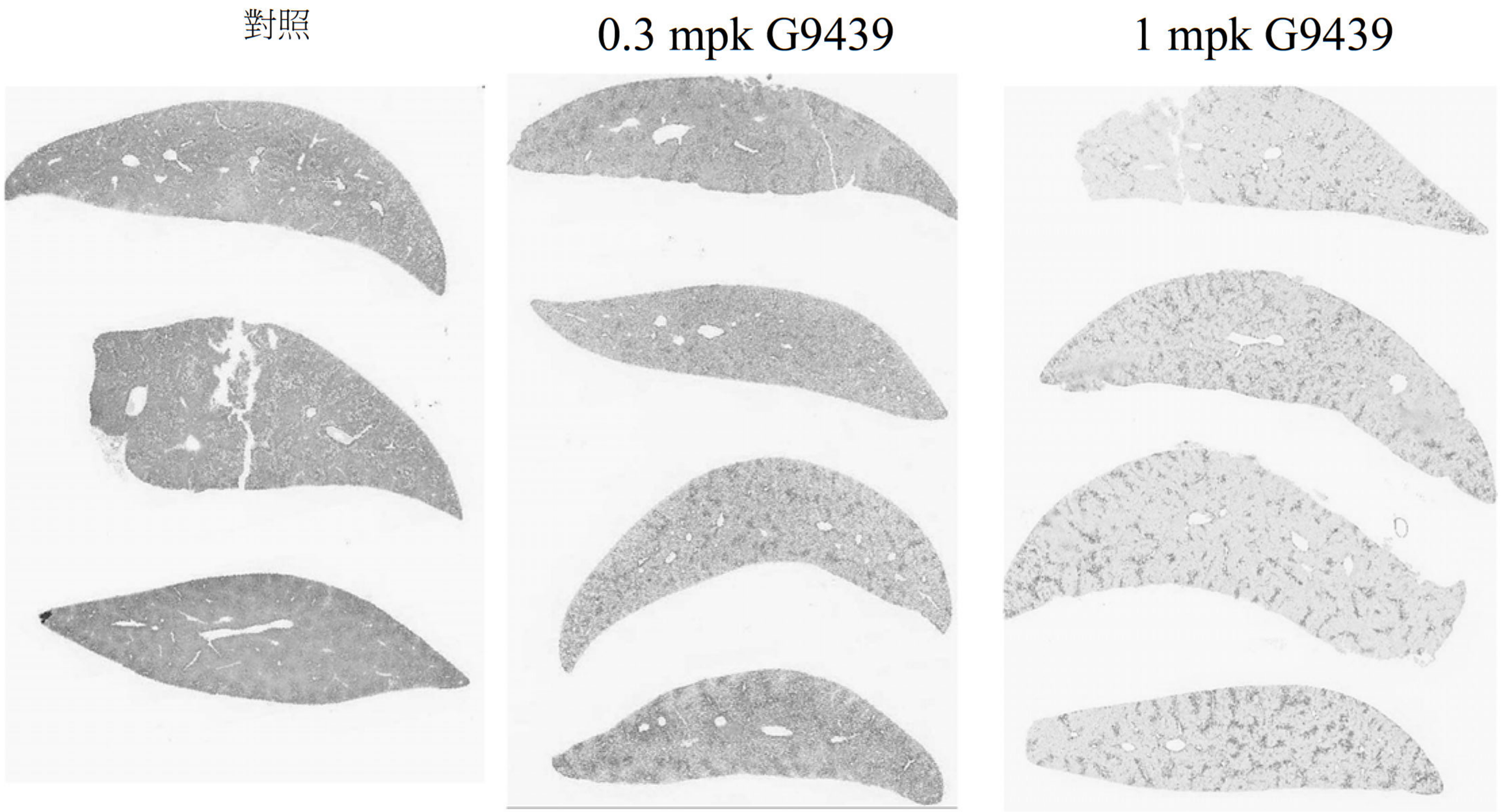
【圖5】

【圖6】

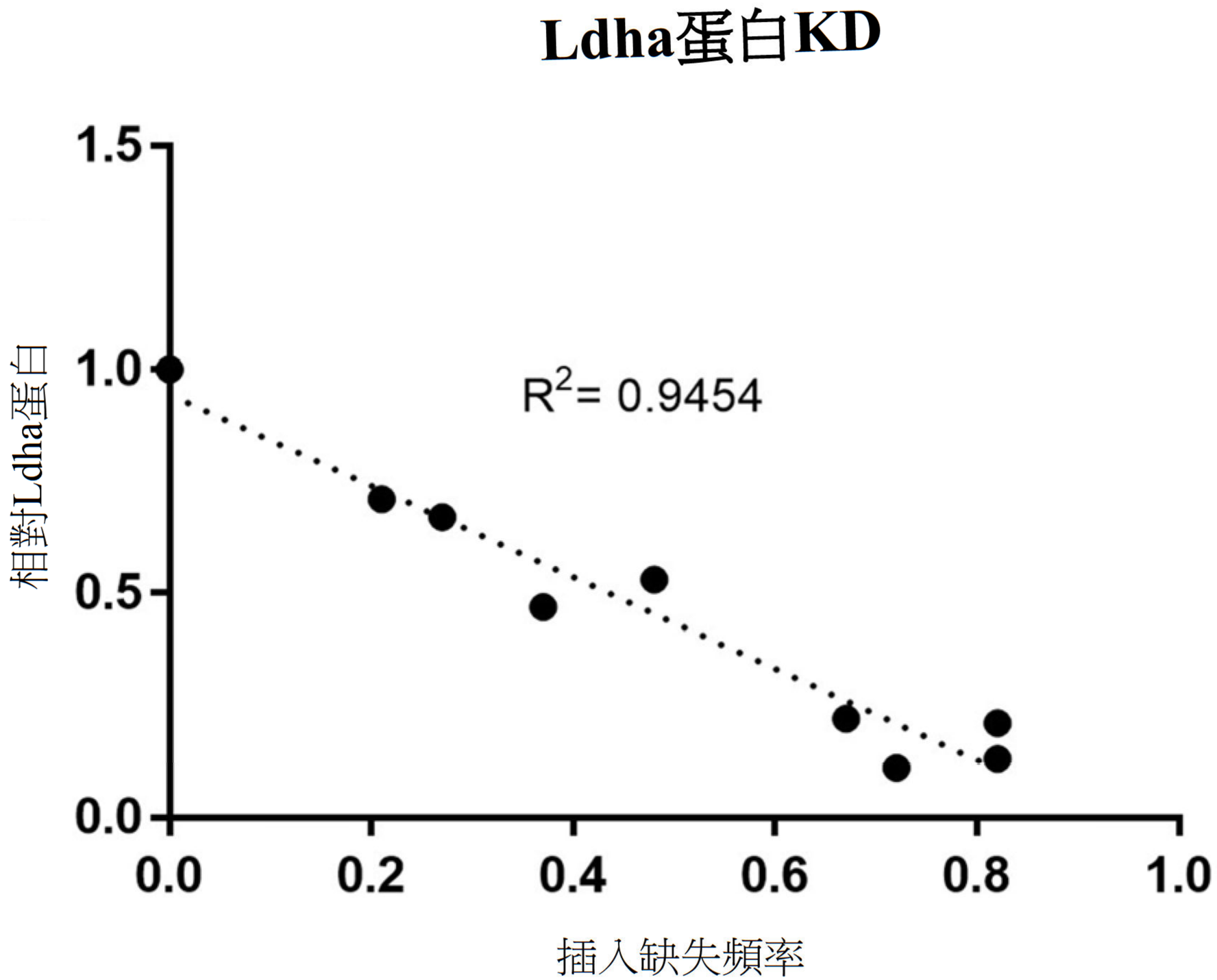

μg草酸鹽(mg/g肌酸酐/24hr)
0
100
200
300
400
500
0
2
4
6
8
10
12
14
16
週
LDHA sgRNA 0.3 mpk
LDHA sgRNA 1 mpk



【圖7】

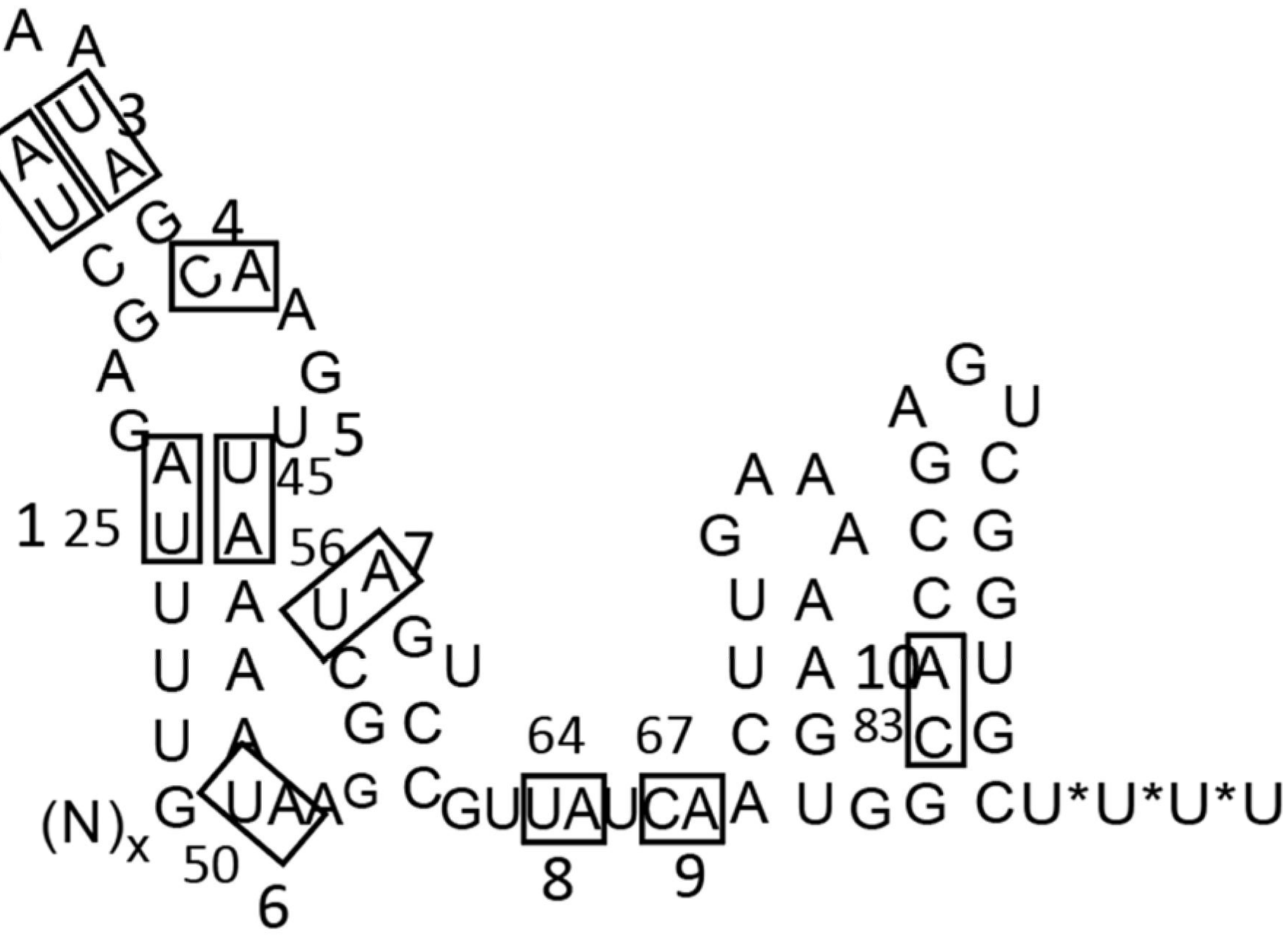


【圖8】

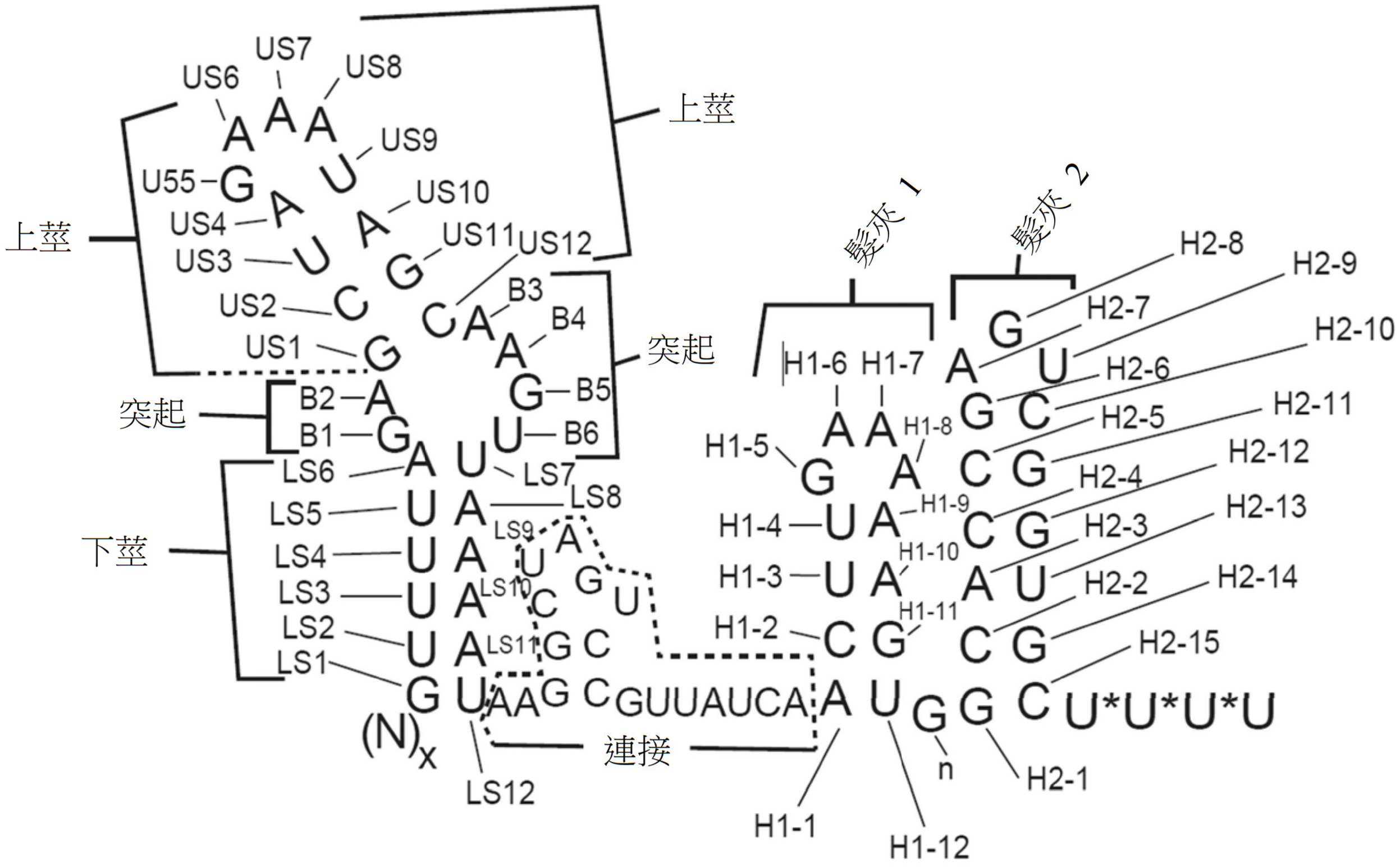


【圖9】

Y/A架構

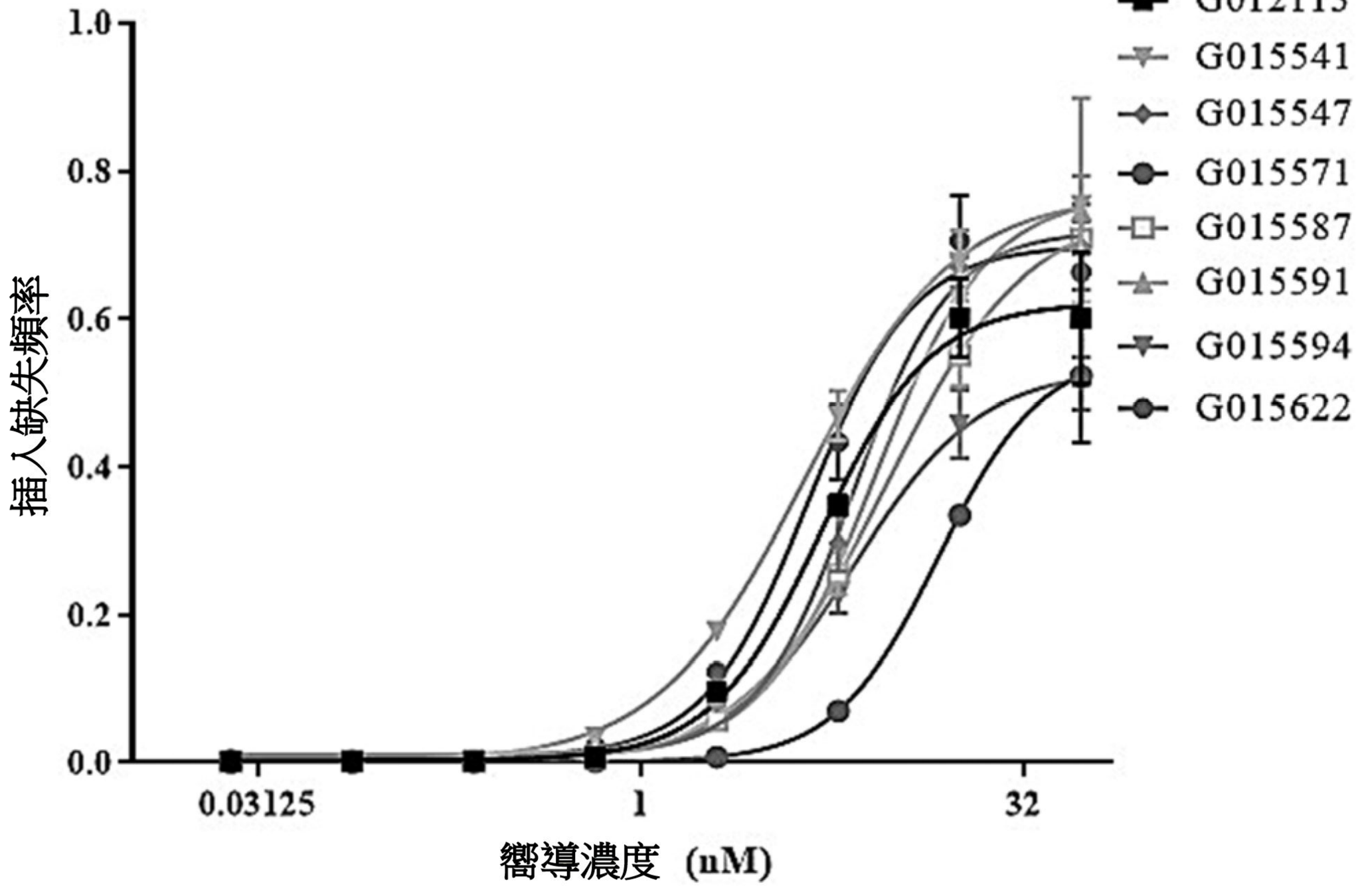

A A A
G A U 3
A U A
2 G 4
C G C A
A G
A G
G U 5
A U 45
1 25 U A 56 7
U A U A
U A C G U
U A G C
U A
G UAA G C GU UA U CA A U G G CU*U*U*U
(N)x 50 6
64 67 8 9
G
A U
A A G C
G A C G
U A C G
U A 10 A U
U A 83 C G

【圖10】

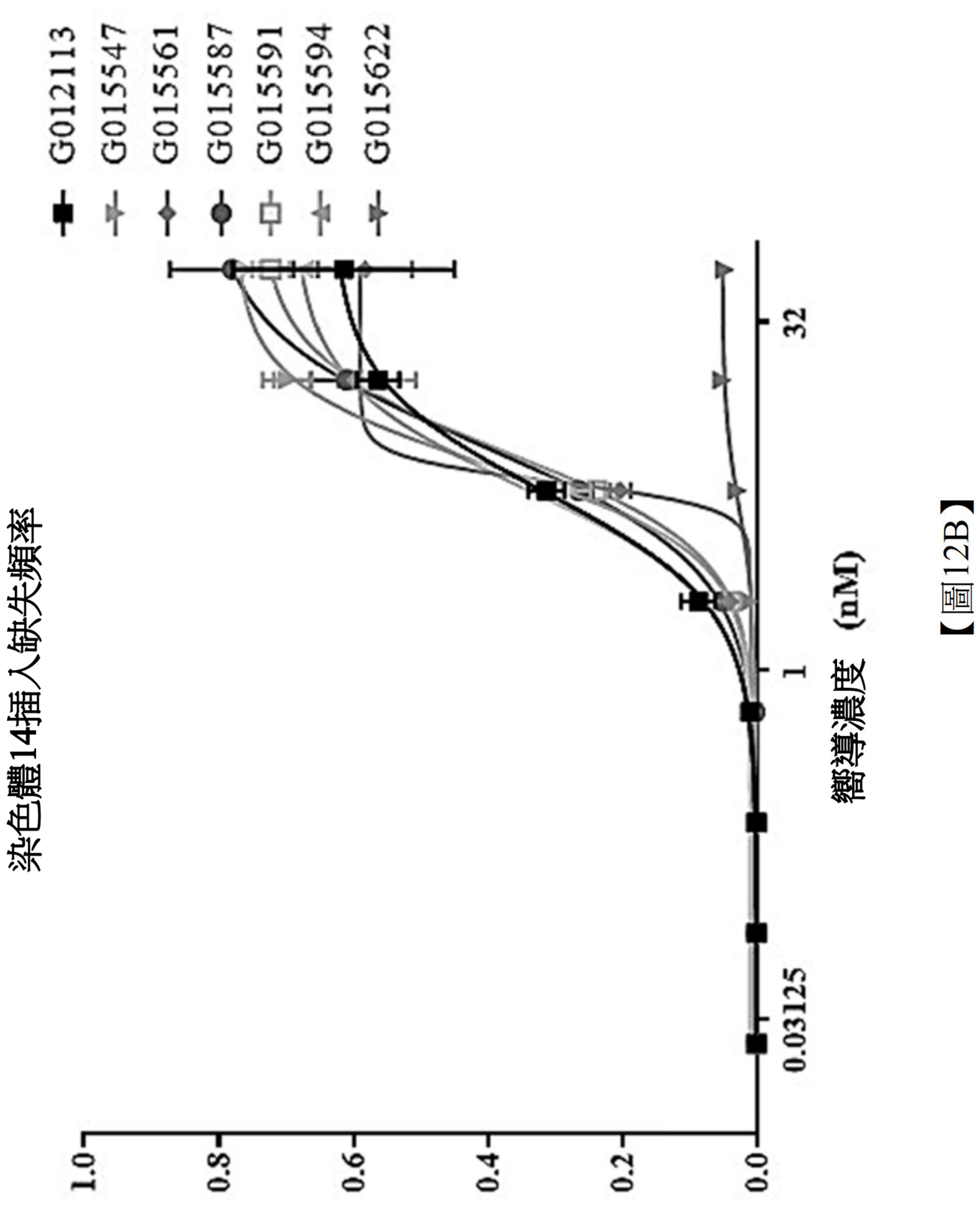

上莖
上莖
突起
突起
下莖
髮夾 1
髮夾 2
US1
US2
US3
US4
US5
US6
US7
US8
US9
US10
US11
US12
B1
B2
B3
B4
B5
B6
LS1
LS2
LS3
LS4
LS5
LS6
LS7
LS8
LS9
LS10
LS11
LS12
H1-1
H1-2
H1-3
H1-4
H1-5
H1-6
H1-7
H1-8
H1-9
H1-10
H1-11
H1-12
H2-1
H2-2
H2-3
H2-4
H2-5
H2-6
H2-7
H2-8
H2-9
H2-10
H2-11
H2-12
H2-13
H2-14
H2-15
連接
(N)x
n
GUUAUCA
U*U*U*U

【圖11】

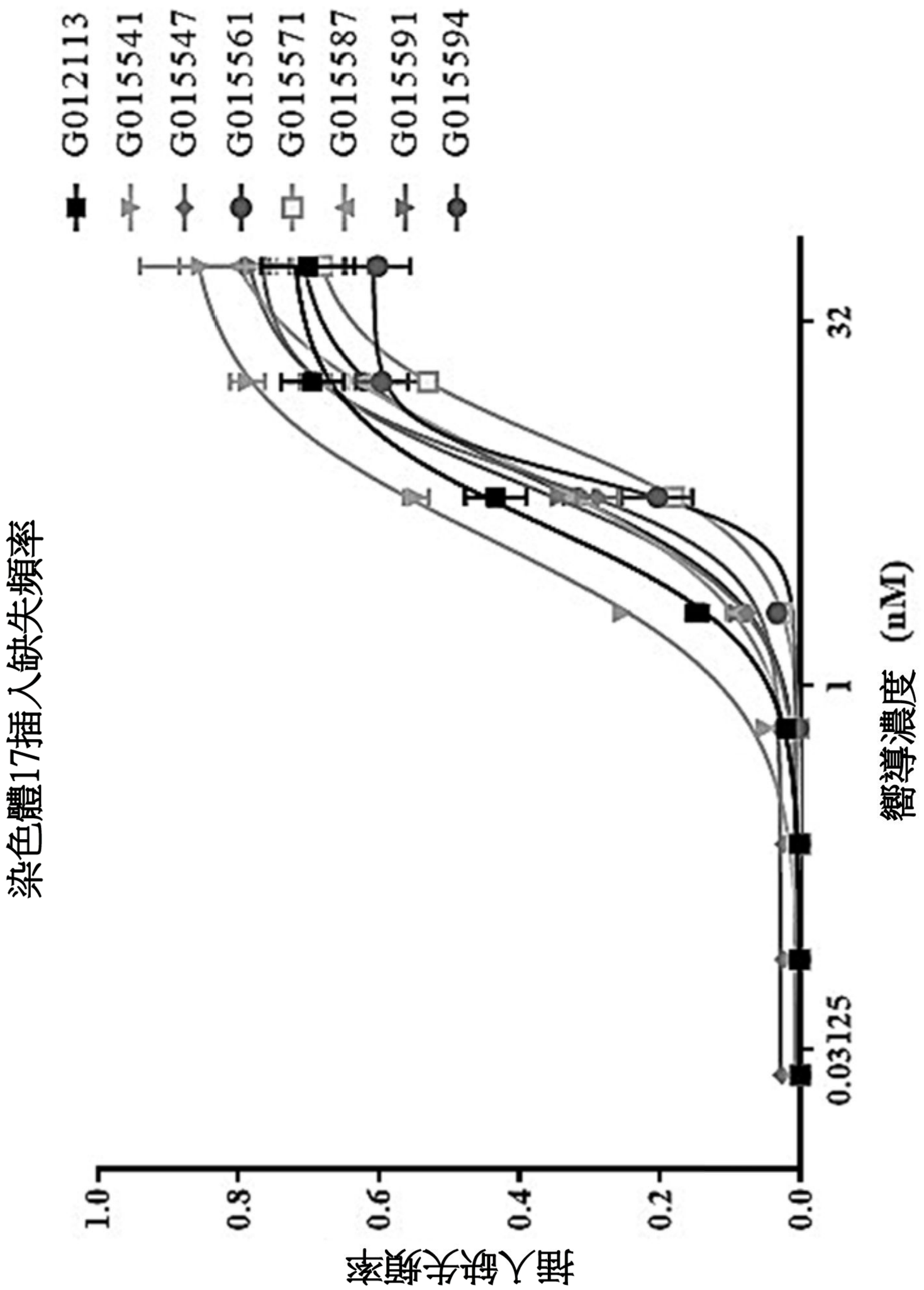
染色體12插入缺失頻率



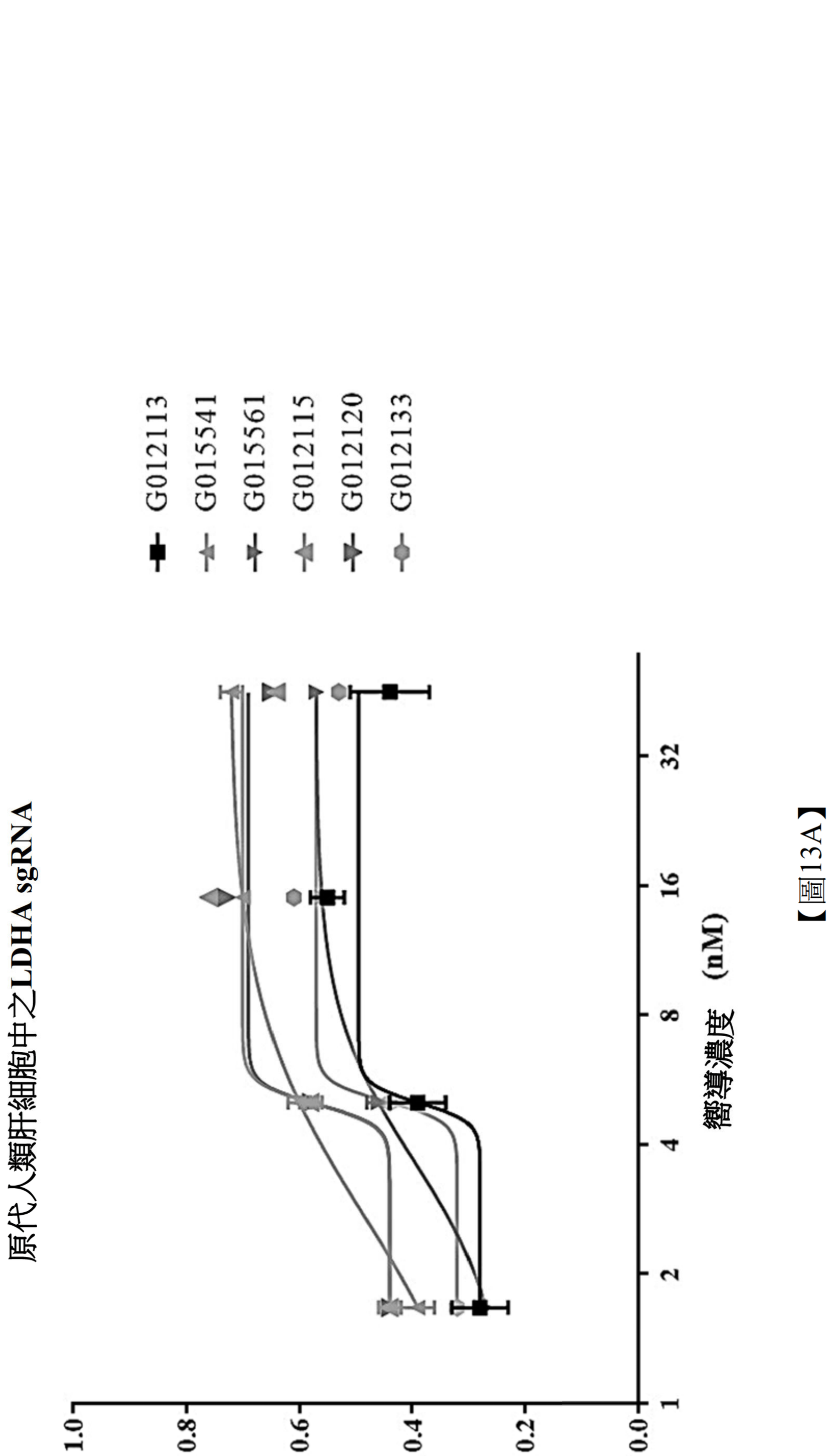
【圖12A】


染色體14插入缺失頻率
插入缺失頻率
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.03125
1
32
響導濃度 (nM)
G012113
G015547
G015562
G015582
G015592
G015597
G015623

【圖12B】

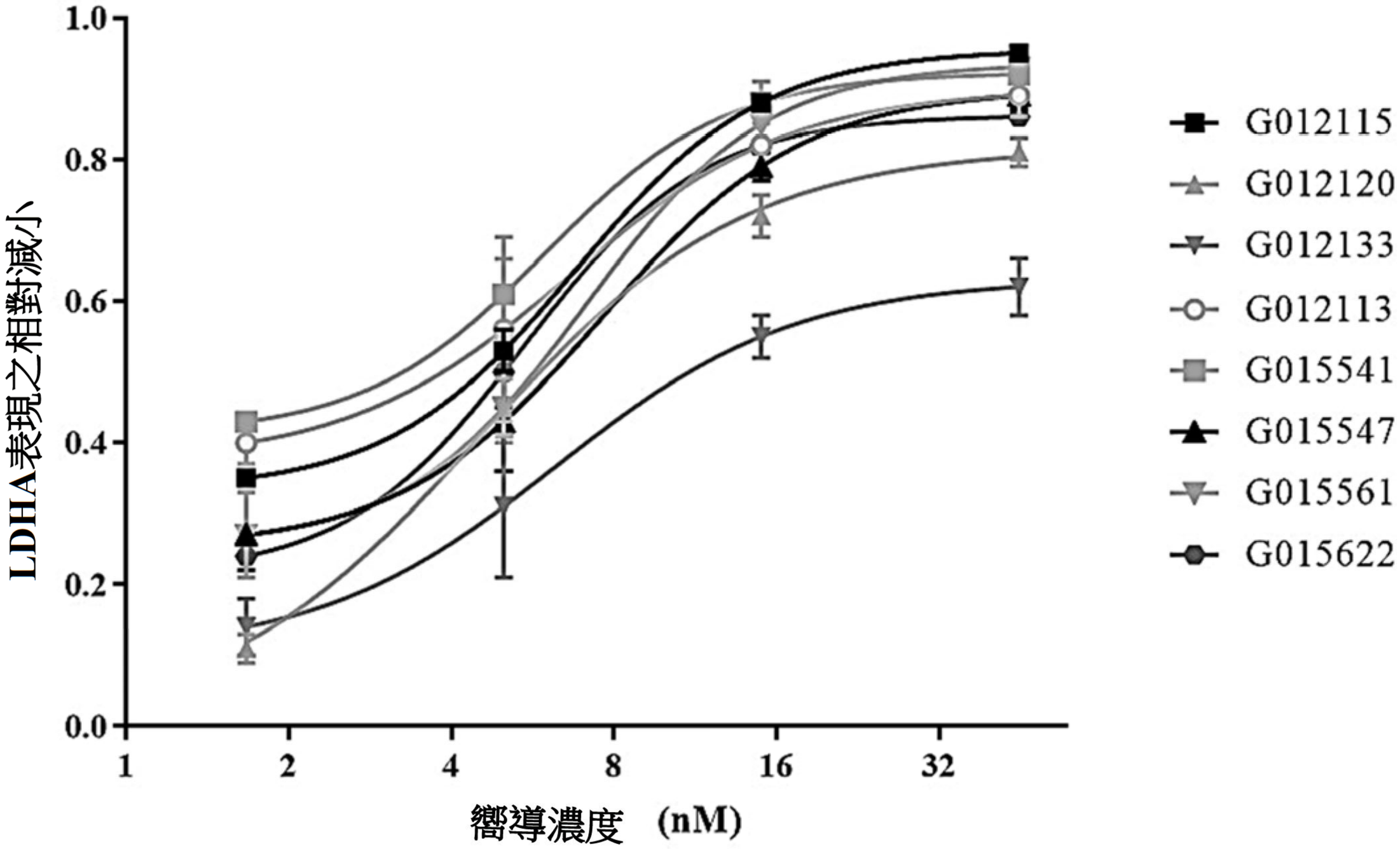

染色體17插入缺失頻率
插入缺失頻率
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.03125
1
32
響導濃度 (uM)
G01213
G01555
G01555
G01555
G01555
G01555
G01555
G01555
13
41
47
61
71
87
91
94

【圖12C】

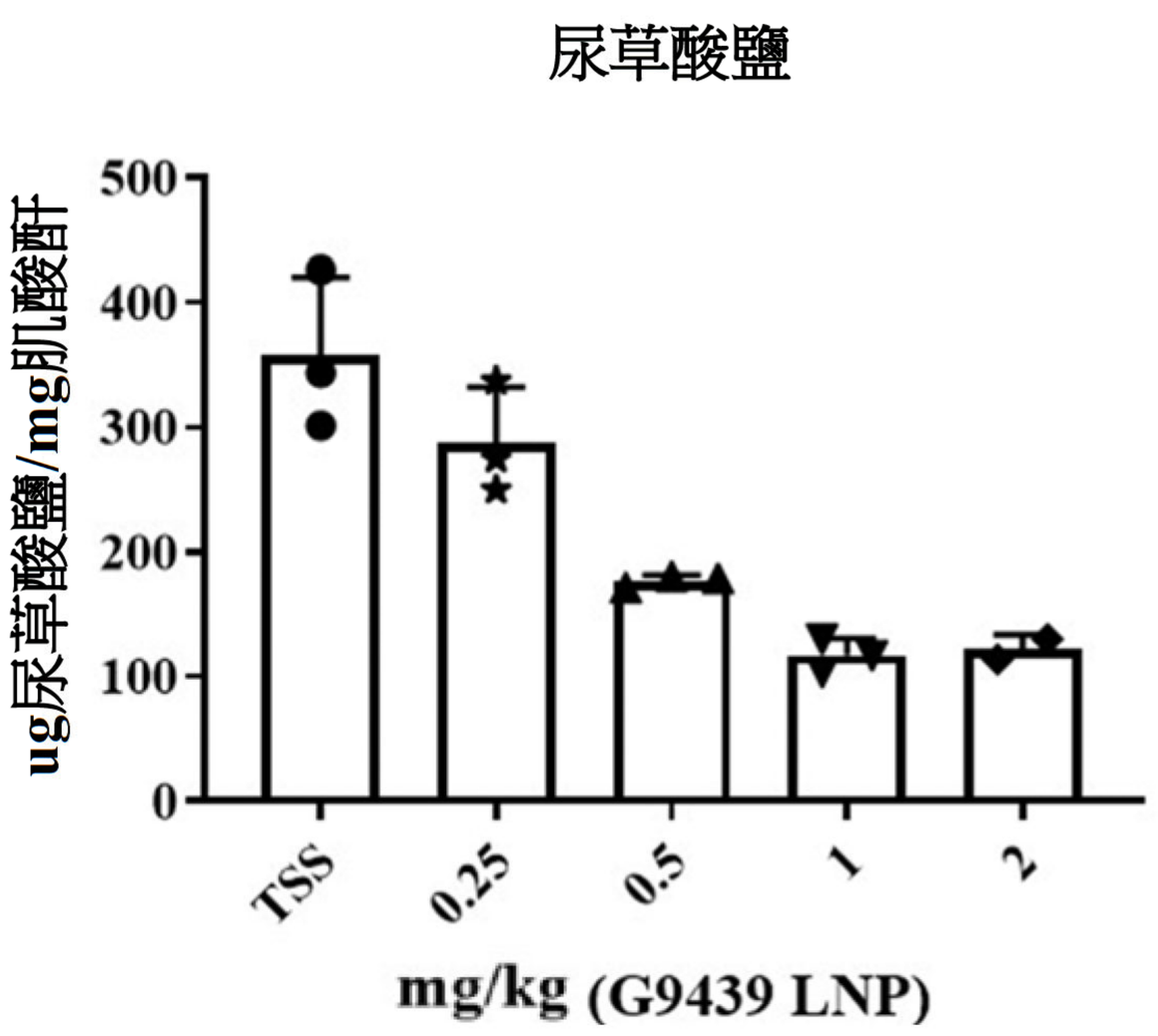

G01
G01
G01
G01
G01
G01
2113
5541
5561
2115
2120
2133
原代人類肝細胞中之LDHA sgRNA
LDHA表現之相對減少
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
1
2
4
8
16
32
(nM)
嚮導濃度

【圖13A】

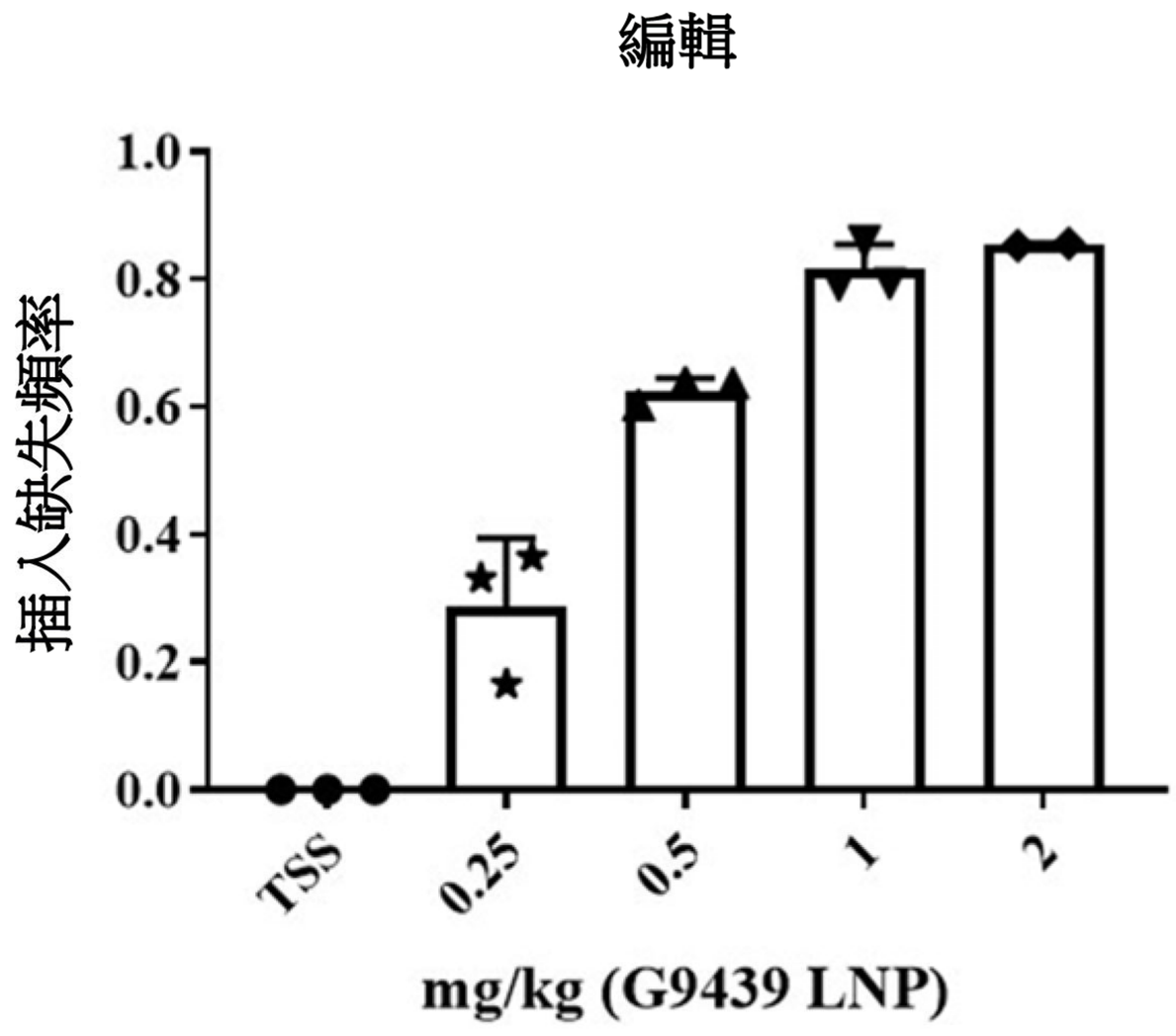
原代食蟹猴肝細胞中之LDHA sgRNA



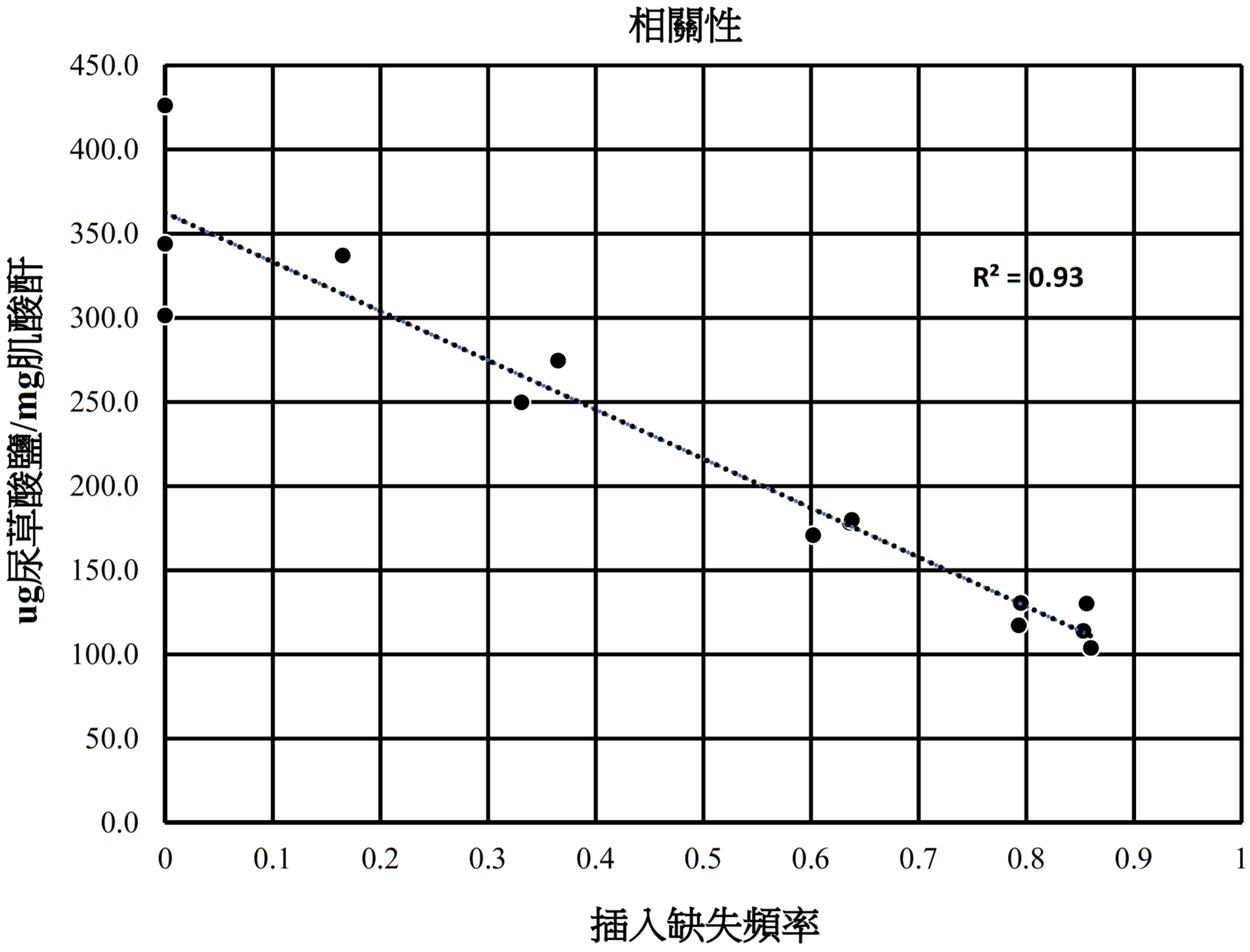
【圖13B】


尿草酸鹽
ug尿草酸鹽/mg肌酸酐
500
400
300
200
100
0
TSS
0.25
0.5
1
2
mg/kg (G9439 LNP)

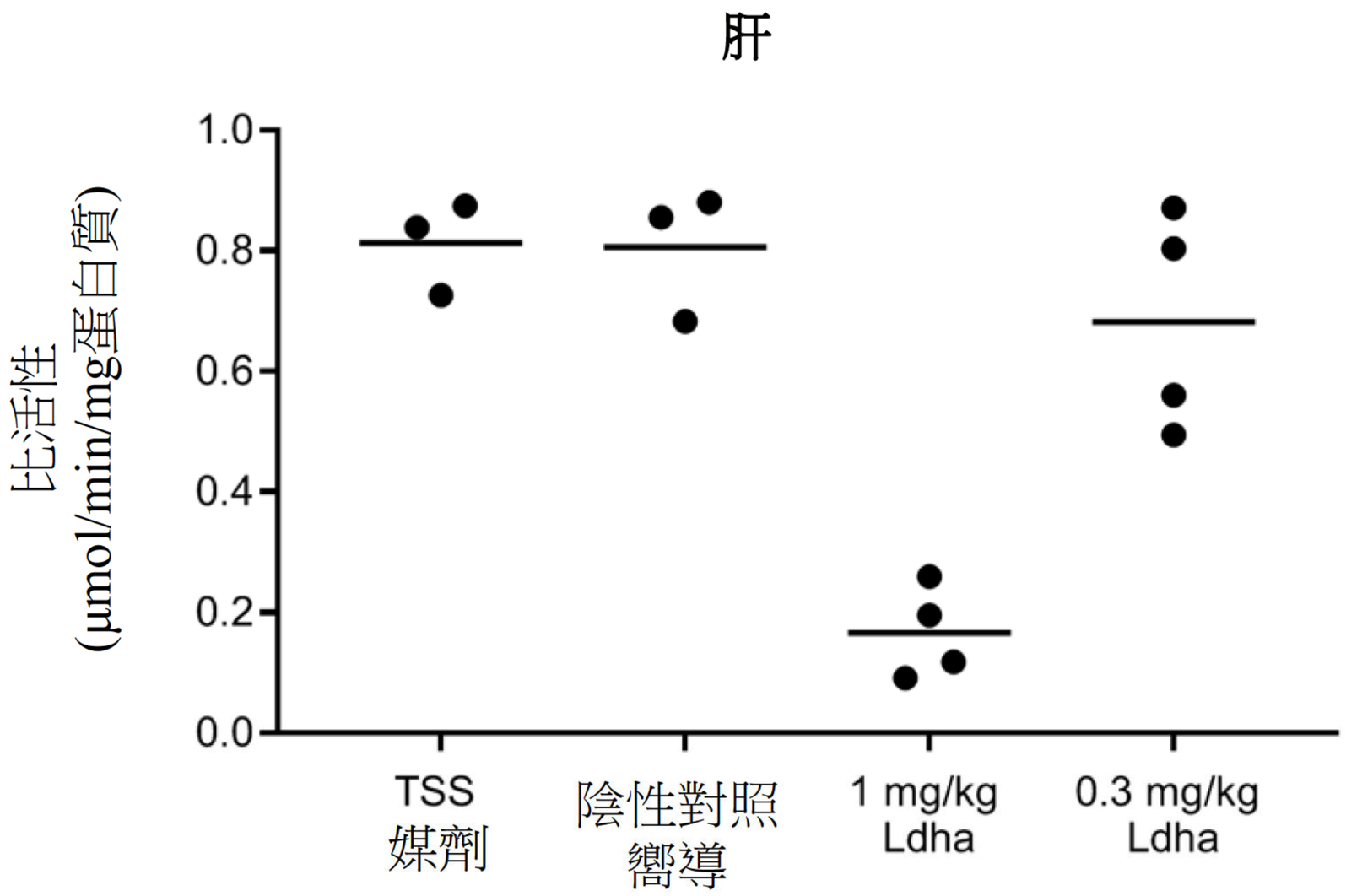
【圖14A】


編輯
插入缺失頻率
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
TSS
0.25
0.5
1
2
mg/kg (G9439 LNP)

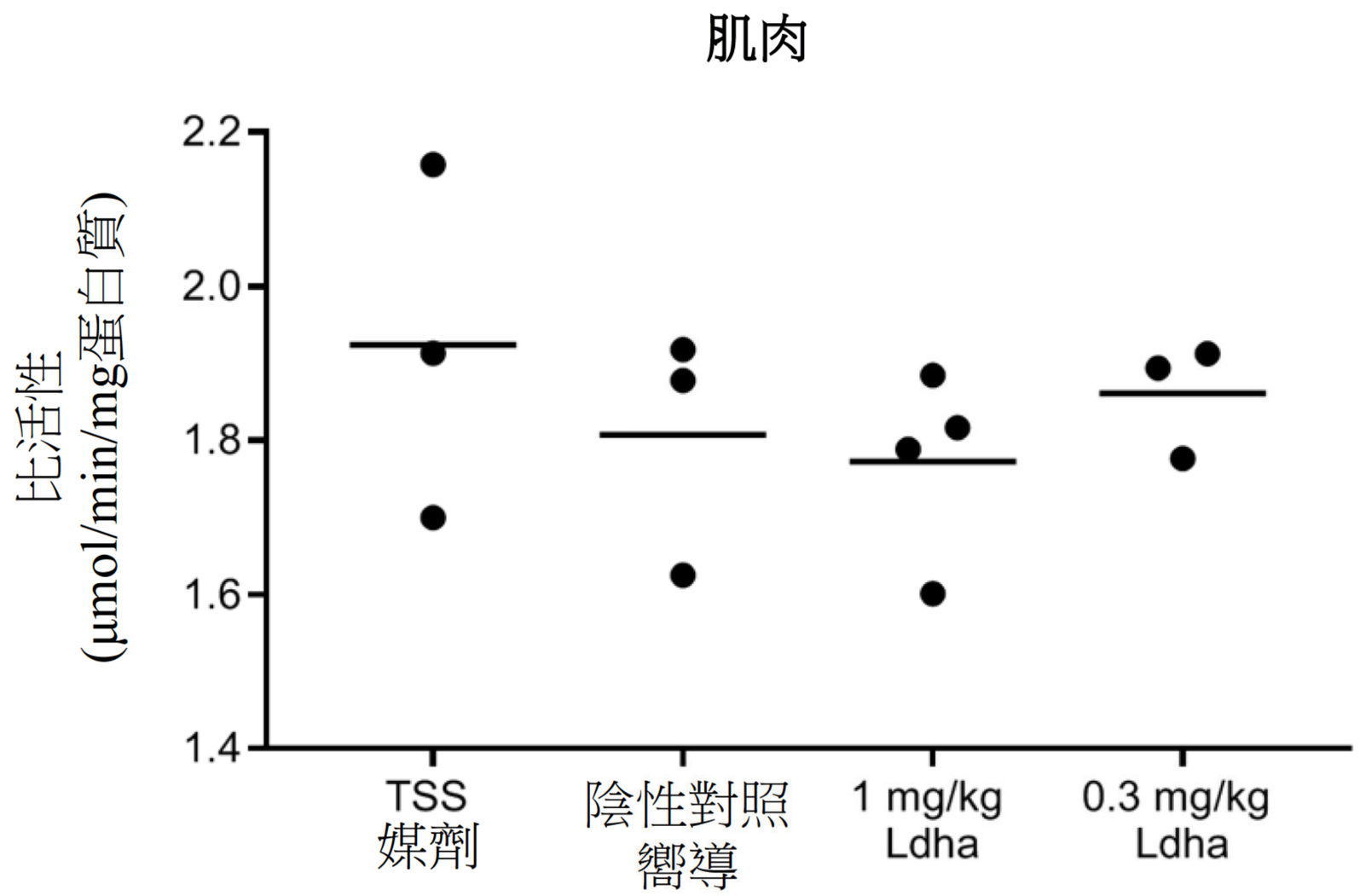
【圖14B】


相關性
ug尿草酸鹽/mg肌酸酐
插入缺失頻率
R² = 0.93
450.0
400.0
350.0
300.0
250.0
200.0
150.0
100.0
50.0
0.0
0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8
0.9
1

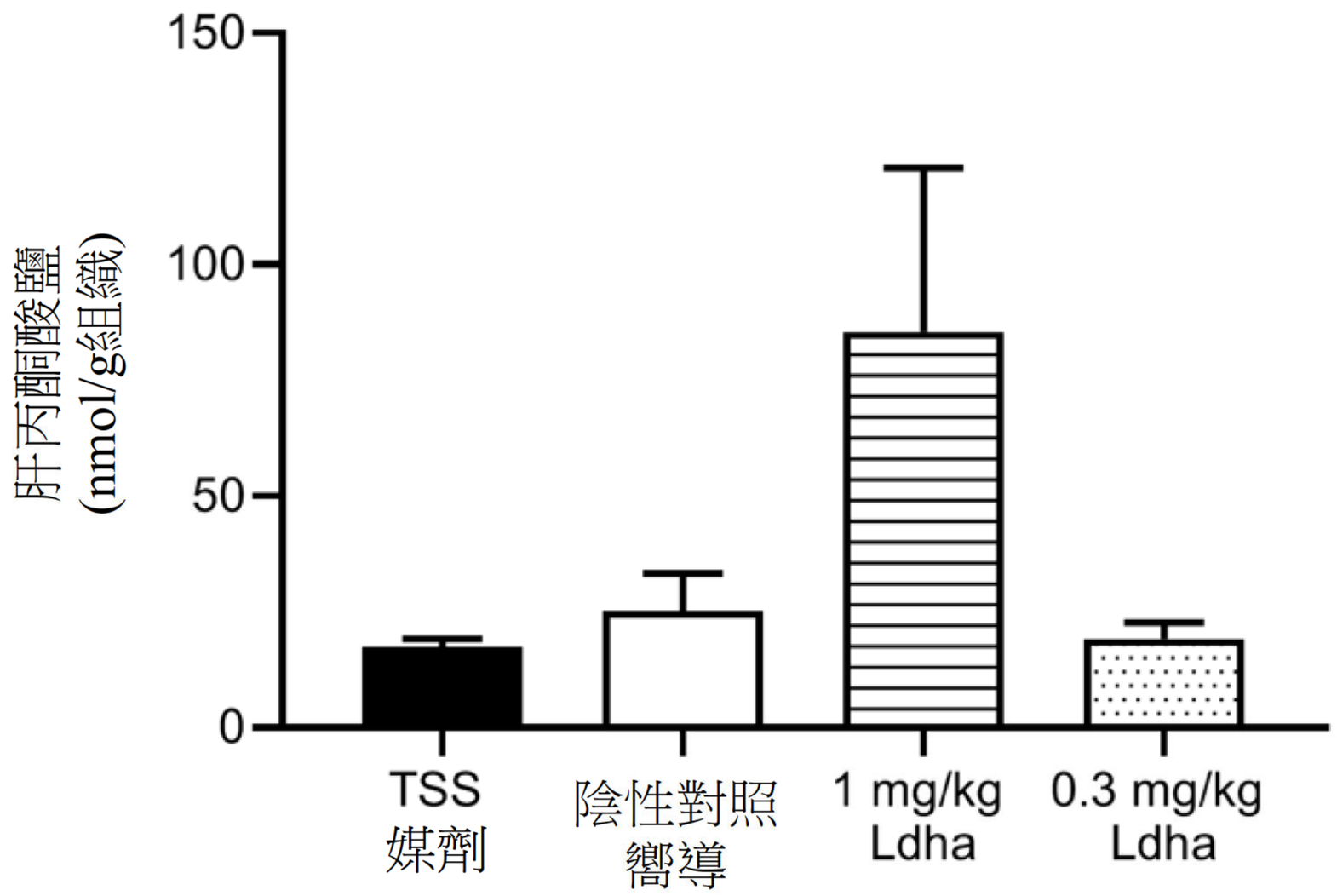
【圖14C】


肝
比活性
(μmol/min/mg蛋白質)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
TSS
媒劑
陰性對照
嚮導
1 mg/kg
Ldha
0.3 mg/kg
Ldha

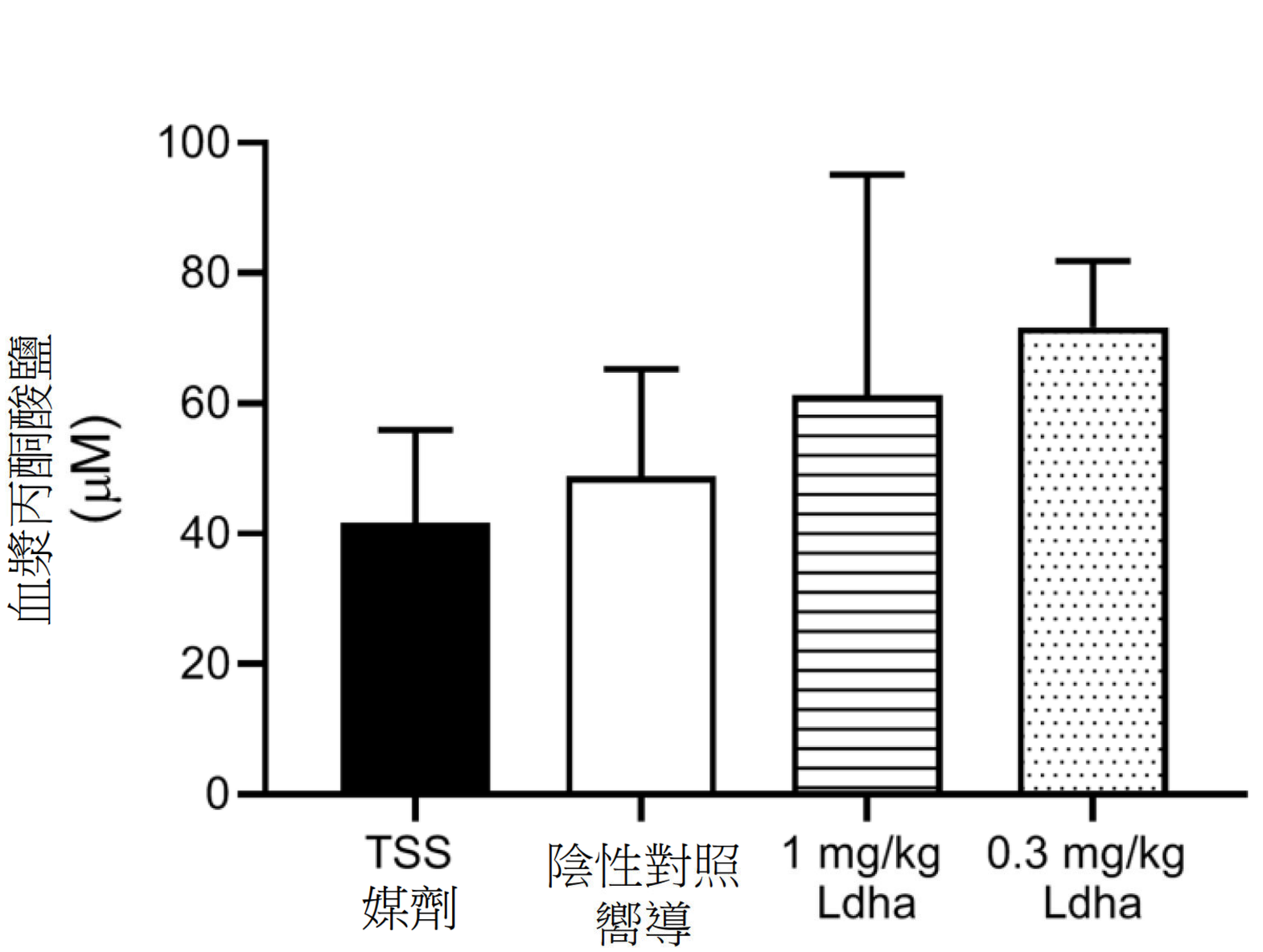
【圖15A】


肌肉
比活性
(μmol/min/mg蛋白質)
2.2
2.0
1.8
1.6
1.4
TSS
媒劑
陰性對照
嚮導
1 mg/kg
Ldha
0.3 mg/kg
Ldha

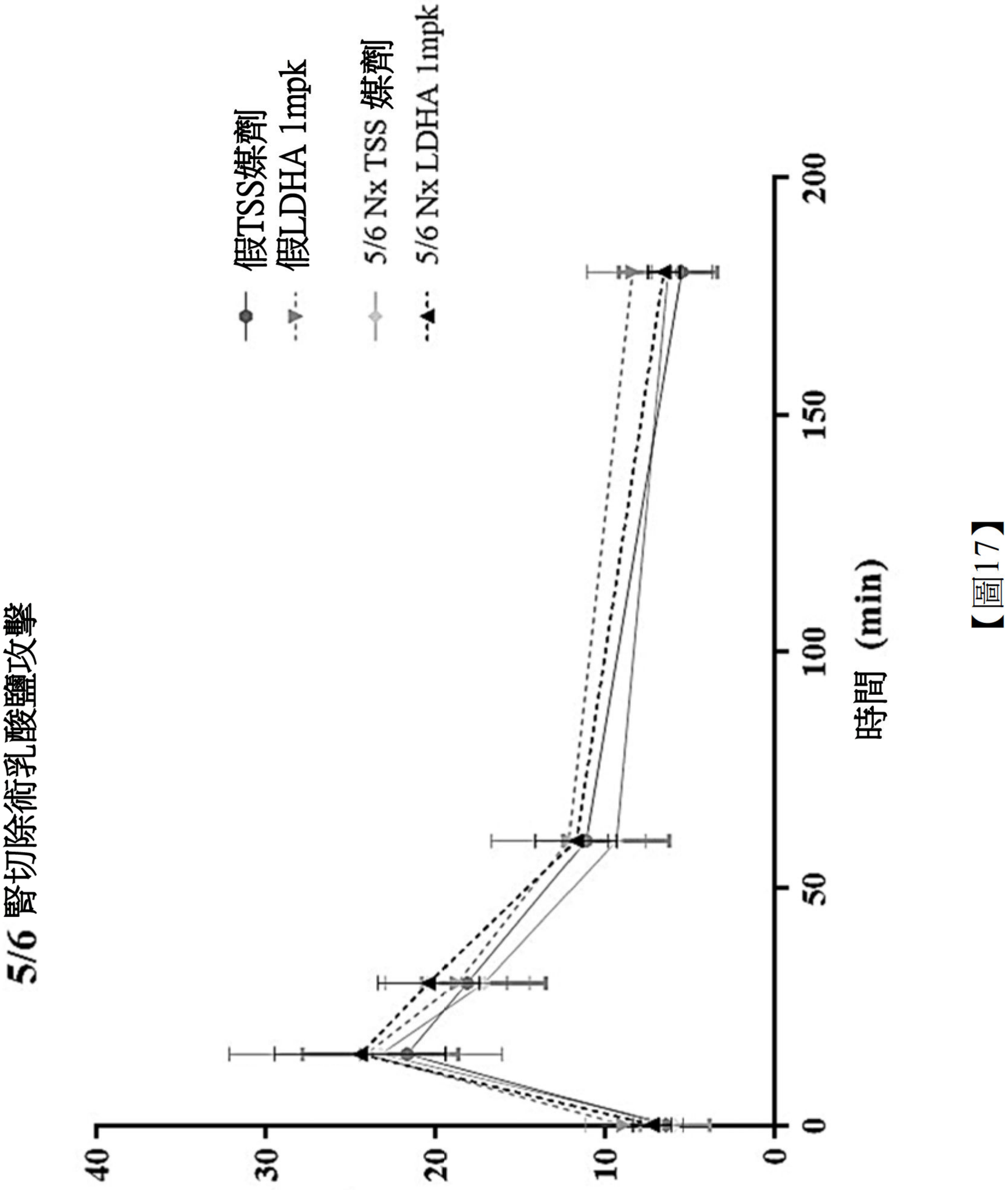
【圖15B】


肝丙酮酸鹽
(nmol/g組織)
150
100
50
0
TSS
媒劑
陰性對照
嚮導
1 mg/kg
Ldha
0.3 mg/kg
Ldha

【圖16A】


血漿丙酮酸鹽
(μM)
100
80
60
40
20
0
TSS
媒劑
陰性對照
嚮導
1 mg/kg
Ldha
0.3 mg/kg
Ldha

【圖16B】


5/6 腎切除術乳酸鹽攻擊
血漿乳酸鹽
時間（min）
0
50
100
150
200
0
10
20
30
40
假TSS媒劑
假LDHA 1mpk
5/6 Nx TSS 媒劑
5/6 Nx LDHA 1mpk

【圖17】