(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119384498 A
(43)申请公布日 2025.01.28

(21)申请号 202380047146.9
(22)申请日 2023.06.15
(30)优先权数据
63/353,008 2022.06.16 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.13
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/068507 2023.06.15
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/245113 EN 2023.12.21
(71)申请人 因特利亚治疗公司
地址 美国
(72)发明人 B·舒尔特斯 A·普罗迪厄斯
O·基利奇 R·奥利维拉
C·东布罗夫斯基
(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
专利代理师 胡志君 黄革生
(51)Int.Cl.
C12N 15/10(2006.01)

权利要求书6页 说明书484页
序列表（电子公布） 附图28页

(54)发明名称

用于对细胞进行遗传修饰的方法和组合物

(57)摘要

提供了用于对细胞进行遗传修饰的方法和组合物。

CN 119384498 A

1.一种对细胞进行遗传修饰的方法,所述方法包括:

(a)使所述细胞与第一基因组编辑工具接触,其中所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第一基因组编辑器同源的向导RNA(gRNA);以及

(b)使所述细胞与第二基因组编辑工具接触,其中所述第二基因组编辑工具包含第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第二基因组编辑器同源的gRNA,其中所述第一基因组编辑器与所述第二基因组编辑器正交,

由此在所述细胞中产生至少两种基因组编辑物。

2.如权利要求1所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述第二基因组编辑器是作为至少一种多肽或至少一种编码所述多肽的多核苷酸递送至所述细胞。

3.如权利要求2所述的方法,其中所述至少一种多核苷酸为至少一种mRNA。

4.如权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述至少一种gRNA是作为至少一种编码所述gRNA的多核苷酸递送至所述细胞。

5.如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器包含裂解酶、切口酶、无催化活性的核酸酶、碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,或包含DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白。

6.如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器包含裂解酶、切口酶、无催化活性的核酸酶、碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,或包含DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白。

7.如权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含裂解酶。

8.如权利要求7所述的方法,所述方法还包括使所述细胞与编码外源基因的核酸接触。

9.如权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)RNA引导的切口酶或裂解酶,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含酿脓链球菌(Spy)RNA引导的切口酶或裂解酶。

10.如权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述第二基因组编辑器包含Nme1 Cas9、Nme2Cas9、Nme3 Cas9或SpyCas9。

11.一种对细胞进行遗传修饰的方法,所述方法包括:

(a)使所述细胞与第一基因组编辑工具接触,所述第一基因组编辑工具包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA);以及

(b)使所述细胞与第二基因组编辑工具接触,所述第二基因组编辑工具包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交,

由此在所述细胞中产生至少两种基因组编辑物。

12.一种产生包含经编辑细胞的细胞群体的方法,所述方法包括:

(a)使所述细胞与第一基因组编辑工具接触,所述第一基因组编辑工具包含含有碱基

编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA);

(b)使所述细胞与第二基因组编辑工具接触,所述第二基因组编辑工具包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交;以及

(c)培养所述细胞,由此产生所述包含经编辑细胞的细胞群体,所述经编辑细胞的每个细胞包含至少两种基因组编辑物。

13.如权利要求11或12所述的方法,其中所述碱基编辑器为C至T碱基编辑器,任选地包含胞苷脱氨酶,或为A至G碱基编辑器,任选地包含腺苷脱氨酶。

14.如权利要求1-13中任一项所述的方法,其中所述至少两种基因组编辑物中的一者包含双链断裂,并且所述至少两种基因组编辑物中的另一者包含转变或碱基编辑物(例如A至G或C至T)。

15.如权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具是经由至少一种脂质纳米颗粒(LNP)递送至所述细胞。

16.如权利要求1-15所述的方法,其中步骤(a)与步骤(b)是同时实施的。

17.如权利要求1-16中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器包含与SEQ ID NO:3、146或311至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。

18.如权利要求1-17中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:1至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞,并且所述第二基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:180-190中的任一者至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞。

19.如权利要求1-18中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:147或310至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞,并且所述第二基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:293或295至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞。

20.如权利要求1-16中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含与SEQ ID NO:9、12、18和21中的任一者至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。

21.如权利要求1-20中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含胞苷脱氨酶,并且其中所述胞苷脱氨酶包含与SEQ ID NO:22至少80%、85%、87%、90%、95%、98%、99%或100%同一的氨基酸序列。

22.如权利要求21所述的方法,其中所述胞苷脱氨酶包含APOBEC3A脱氨酶(A3A)。

23.如权利要求1-22中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含Cas9切口酶。

24.如权利要求1-23中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)Cas9切口酶。

25.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含D16A NmeCas9切口酶,任选地为D16ANme2Cas9。

26.如权利要求1-25中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导

的裂解酶包含Cas9裂解酶。

27.如权利要求1-26中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含酿脓链球菌(Spy)Cas9裂解酶。

28.如权利要求1-23中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含酿脓链球菌(Spy)Cas9切口酶。

29.如权利要求1-23和28中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含D10A SpyCas9切口酶。

30.如权利要求1-23和29中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)Cas9裂解酶。

31.如权利要求1-30中任一项所述的方法,其中至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶不同源。

32.如权利要求1-31中任一项所述的方法,其中至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器不同源。

33.如权利要求1-32中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少两种靶向至少两个不同基因组基因座的gRNA。

34.如权利要求1-33中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少三种靶向至少三个不同基因组基因座的gRNA。

35.如权利要求1-34中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少四种靶向至少四个不同基因组基因座的gRNA。

36.如权利要求1-35中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少五种靶向至少五个不同基因组基因座的gRNA。

37.一种组合物,所述组合物包含:

(a)第一基因组编辑工具,其中所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第一基因组编辑器同源的向导RNA(gRNA);和

(b)第二基因组编辑工具,其中所述第二基因组编辑工具包含第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第二基因组编辑器同源的gRNA,其中所述第一基因组编辑器与所述第二基因组编辑器正交。

38.如权利要求37所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述第二基因组编辑器包含至少一种多肽或至少一种mRNA。

39.如权利要求37或38所述的组合物,其中所述至少一种gRNA包含至少一种编码所述gRNA的多核苷酸。

40.如权利要求37-39中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器包含裂解酶、切口酶、无催化活性的核酸酶、碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,或包含DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白。

41.如权利要求37-40中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器包含裂解酶、切口酶、无催化活性的核酸酶、碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,或包含DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白。

42.如权利要求37-41中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器和所述第二

基因组编辑器中的一者包含碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含裂解酶。

43.如权利要求42所述的组合物,所述组合物还包含编码外源基因的核酸。

44.如权利要求37-41中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含C至T碱基编辑器,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含A至G碱基编辑器。

45.如权利要求37-44中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)RNA引导的切口酶,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含酿脓链球菌(Spy)RNA引导的切口酶。

46.如权利要求37-45中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述第二基因组编辑器为Nme1Cas9、Nme2Cas9、Nme3 Cas9或SpyCas9。

47.一种组合物,所述组合物包含:

(a)第一基因组编辑工具,其中所述第一基因组编辑工具包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA);和

(b)第二基因组编辑工具,所述第二基因组编辑工具包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交。

48.如权利要求47所述的组合物,其中所述碱基编辑器为C至T碱基编辑器,任选地包含胞苷脱氨酶,或为A至G碱基编辑器,任选地包含腺苷脱氨酶。

49.如权利要求37-48中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具含于至少一种脂质纳米颗粒(LNP)中。

50.如权利要求37-49中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器包含与SEQ ID NO:3、146或311至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。

51.如权利要求37-50中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:1至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至细胞,并且所述第二基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:180-190中的任一者至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至细胞。

52.如权利要求37-51中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:147或310至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至细胞,并且所述第二基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:293或295至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至细胞。

53.如权利要求37-49中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含与SEQ ID NO:9、12、18和21中的任一者至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。

54.如权利要求37-53中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含胞苷脱氨酶,并且其中所述胞苷脱氨酶包含与SEQ ID NO:22至少80%、85%、87%、90%、95%、98%、99%或100%同一的氨基酸序列。

55.如权利要求54所述的组合物,其中所述胞苷脱氨酶包含APOBEC3A脱氨酶(A3A)。

56.如权利要求37-55中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含Cas9切口酶。

57.如权利要求37-56中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)Cas9切口酶。

58.如权利要求37-57中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含D16ANmeCas9切口酶,任选地为D16ANme2Cas9。

59.如权利要求37-58中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含Cas9裂解酶。

60.如权利要求37-59中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含酿脓链球菌(Spy)Cas9裂解酶。

61.如权利要求37-56中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含酿脓链球菌(Spy)Cas9切口酶。

62.如权利要求37-56和61中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含D10A SpyCas9切口酶。

63.如权利要求37-56、61和62中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)Cas9裂解酶。

64.如权利要求37-63中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶不同源。

65.如权利要求37-64中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器不同源。

66.如权利要求37-65中任一项所述的组合物,其中所述至少一种gRNA包含至少一种单一向导RNA(sgRNA)。

67.如权利要求37-66中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少两种靶向至少两个不同基因组基因座的gRNA。

68.如权利要求37-67中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少三种靶向至少三个不同基因组基因座的gRNA。

69.如权利要求37-68中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少四种靶向至少四个不同基因组基因座的gRNA。

70.如权利要求37-69中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少五种靶向至少五个不同基因组基因座的gRNA。

71.如权利要求68-70中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器和所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源并且靶向不同基因组基因座的gRNA中的一者、两者、三者、四者、五者或六者含于同一脂质纳米颗粒(LNP)中。

72.如权利要求15-36和49-71中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP包含可电离脂质。

73.如权利要求72所述的方法或组合物,其中所述可电离脂质包含生物可降解的可电离脂质。

74.如权利要求15-36和49-73中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约50-60mol％胺脂质如脂质A;约8-10mol％中性脂质;和约2.5-4mol％隐形脂质(例如PEG脂质),其中所述脂质组分的其余部分为辅助脂质,并且其中所述脂质LNP的N/P比为约3-7。

75.如权利要求15-36和49-74中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约25-45mol％胺脂质,如脂质A;约10-30mol％中性脂质;约25-65mol％辅助脂质;和约1.5-3.5mol％隐形脂质(例如PEG脂质),并且其中所述LNP的N/P比为约3-7。

76.一种细胞,其中所述细胞在体外用权利要求1-75中任一项所述的方法或组合物处理。

77.如权利要求76所述的细胞,其中所述细胞为人类细胞。

78.如权利要求76或77所述的细胞,其中所述细胞选自:间质干细胞;造血干细胞(HSC);单核细胞;内皮祖细胞(EPC);神经干细胞(NSC);缘干细胞(LSC);组织特异性原代细胞或由其衍生的细胞(TSC)、诱导型多能干细胞(iPSC);眼干细胞;多能干细胞(PSC);胚胎干细胞(ESC);和用于器官或组织移植的细胞,以及任选地用于ACT疗法中的细胞。

79.如权利要求76-78中任一项所述的细胞,其中所述细胞为免疫细胞。

80.一种细胞群体,所述细胞群体包含权利要求76-79中任一项所述的细胞。

81.如权利要求80所述的细胞群体,其中所述细胞离体培养、扩增或增殖。

82.如权利要求37-81中任一项所述的细胞、细胞群体或组合物,其用于治疗癌症。

83.如权利要求37-82中任一项所述的细胞、细胞群体或组合物用于制备用以治疗癌症的药剂的用途。

84.一种工程化细胞,所述工程化细胞包含在至少三个基因组基因座中的至少三种碱基编辑物以及至少一个外源基因。

用于对细胞进行遗传修饰的方法和组合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据35USC 119(e)要求2022年6月16日提交的美国临时申请第63/353,008号的权益,所述临时申请的内容通过引用整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有序列表,所述序列表已以XML文件格式电子提交并且特此通过引用整体并入。所述XML文件创建于2023年6月13日,命名为“01155-0060-00PCT_SL.xml”并且大小为2,718,632字节。

[0005] 引言和发明内容

[0006] 将多个遗传编辑物引入至细胞中的能力对于基因编辑和临床治疗应用而言是受关注的。例如,使用经遗传修饰的免疫细胞的过继性细胞疗法已成为治疗包括癌症在内的多种疾患和疾病、重建细胞谱系和免疫系统防御的有吸引力的方式。然而,部分地由于复杂的遗传工程要求,细胞产品疗法的临床应用一直具有挑战性。将多种属性工程化至单细胞中的能力取决于有效地对多个靶基因实施编辑的能力,包括基因敲除和基因座插入,同时保持存活率和期望的细胞表型。

[0007] 已证明CRISPR/Cas9基因组编辑是高效的;然而,据报道,在不同基因座中同时编辑导致细胞存活较差、易位增加,其潜在地损害细胞产品的质量和安全性,并且随着编辑次数增加,基因编辑效率降低。由于对细胞的累积毒性,现有细胞工程技术在使用顺序编辑过程提供必要的细胞质量和产率方面存在局限性。

[0008] 因此,业内需要更安全、更有效的用于将多个基因组编辑工具递送至细胞并且用于例如以更少的步骤或在更短的时间段内实施多重基因编辑的方法。

[0009] 本文所提供的方法包括使用至少两种用于多重基因组编辑应用的基因组编辑工具,从而提供优于传统方法的实质性优点。

[0010] 在一些实施方案中,本文所提供的方法产生具有更高存活率和扩增的细胞,同时维持高编辑速率,由此缩短制造所需的时间并且增加产率。

附图说明

[0011] 图1A至图1C显示在3个供体中同时插入和碱基编辑后,缺少HLA-A表面表达的T细胞百分比。

[0012] 图2A至图2C显示在3个供体中同时插入和碱基编辑后,缺少CD3表面表达的T细胞百分比。

[0013] 图3A至图3C显示在3个供体中同时插入和碱基编辑后,表达转基因T细胞受体的T细胞百分比。

[0014] 图4A至图4H显示在3个供体中同时插入和碱基编辑后,T细胞中的编辑百分比。

[0015] 图5A显示在4个供体中使用脂质纳米颗粒同时插入和碱基编辑后,显示完全编辑标志物的T细胞百分比。

[0016] 图5B显示在4个供体中使用脂质纳米颗粒同时插入和碱基编辑后,缺少CD3表面表

达的T细胞百分比。

[0017] 图5C显示在4个供体中使用脂质纳米颗粒同时插入和碱基编辑后,缺少HLA-A2表面表达、HLA-A3表面表达或所述两者的T细胞百分比。

[0018] 图5D显示在4个供体中使用脂质纳米颗粒同时插入和碱基编辑后,缺少HLA-DP、DQ、DR表面表达的T细胞百分比。

[0019] 图5E显示在4个供体中使用脂质纳米颗粒同时插入和碱基编辑后,转基因TCR的表面表达呈阳性的T细胞百分比。

[0020] 图6A显示原代小鼠肝细胞中自蛋白基因座处的编辑百分比和相对发光。

[0021] 图6B显示原代小鼠肝细胞中TTR基因座处的平均编辑百分比。

[0022] 图7A显示小鼠肝脏中TTR基因座处的编辑百分比。

[0023] 图7B显示小鼠肝脏中自蛋白基因座处的编辑百分比。

[0024] 图7C显示血清A1AT水平。

[0025] 图8A显示在AAVS1处插入后,GFP阳性供体1T细胞的百分比。

[0026] 图8B显示在AAVS1处插入后,GFP阳性供体2T细胞的百分比。

[0027] 图9显示在扩增培养基中指示天数后,细胞群体的倍数增加。

[0028] 图10A至图10B分别显示CD4+和CD8+亚群的完全编辑T细胞的平均百分比。

[0029] 图11A至图11C显示碱基编辑后TRAC、TRBC1、TRBC2和CIITA基因座的平均编辑百分比。

[0030] 图12A显示通过流式细胞术以CD3--或Vb8+评分的CD8+T细胞的平均百分比。图12B显示通过流式细胞术,HLA-DP、DQ、DR、HLA-A2或HLA-A3表面标志物的评分为阴性的CD8+T细胞的平均百分比。

[0031] 图13A显示展示中枢记忆干细胞表型的CD8+工程化T细胞的平均百分比。图13B显示展示中枢记忆细胞表型标志物的CD8+工程化T细胞的平均百分比。图13C显示展示效应记忆细胞表型标志物的CD8+工程化T细胞的平均百分比。

[0032] 图14显示工程化T细胞杀伤靶细胞的平均百分比。

[0033] 图15显示用1.0ug/ml或0.5ug.ml碱基编辑器mRNA处理后的平均编辑百分比。

[0034] 图16显示所指示的表面蛋白质表达呈阴性的T细胞的平均百分比。

[0035] 对所公开序列的简要说明

[0036]

SEQ ID NO	说明
1	编码 SpyCas9 BC22n 的 mRNA
2	Sp BC22n 的开放阅读框
3	Sp BC22n 的氨基酸序列
4	编码带有 Hibit 标签的 Sp BC22n 的 mRNA
5	带有 Hibit 标签的 Sp BC22n 的开放阅读框
6	带有 Hibit 标签的 Sp BC22n 的氨基酸序列
7	编码 BE3 的 mRNA
8	BE3 的开放阅读框
9	BE3 的氨基酸序列
10	编码 BE3 的 mRNA
11	BE3 的开放阅读框
12	BE3 的氨基酸序列
13	编码 UGI 的 mRNA
14	UGI 的开放阅读框
15	UGI 的氨基酸序列
16	编码具有 2x UGI 的 Sp BC22 的 mRNA
17	具有 2x UGI 的 Sp BC22 的开放阅读框
18	具有 2x UGI 的 Sp BC22 的氨基酸序列
19	编码 BE4MAX 蛋白的 mRNA
20	BE4MAX 蛋白的开放阅读框
21	BE4MAX 蛋白的氨基酸序列

[0037]

SEQ ID NO	说明
22	智人(H. sapiens) APOBEC3A 脱氨酶(A3A)的氨基酸序列，参见 BC22
23	
24	示例性 UGI
25	示例性 XTEN
26	示例性 XTEN
27	示例性 XTEN
28	示例性接头的氨基酸序列
29	示例性接头的氨基酸序列
30	示例性接头的氨基酸序列
31	示例性接头的氨基酸序列
32	示例性接头的氨基酸序列
33	示例性接头的氨基酸序列
34	示例性接头的氨基酸序列
35	示例性接头的氨基酸序列
36	示例性接头的氨基酸序列
37	示例性接头的氨基酸序列
38	示例性接头的氨基酸序列
39	示例性接头 SGGS 的氨基酸序列
40	SV40 NLS 的氨基酸序列
41	具有作为 C 末端 7 氨基酸的 1x NLS 的 Sp Cas9 切口酶(D10A)的氨基酸序列
42	使用如表 3 中所列示的最小尿苷密码子(无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)的 Sp Cas9 切口酶(D10A) mRNA 编码序列
43	Sp Cas9 切口酶(不含 NLS)的氨基酸序列
44	使用如表 3 中所列示的最小尿苷密码子(无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)，编码 SEQ ID NO: 43 的 Cas9 切口酶编码序列
45	具有两个核定位信号作为 C 末端氨基酸的 Sp Cas9 切口酶的氨基酸序列
46	使用如表 3 中所列示的最小尿苷密码子(无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)，编码 SEQ ID NO: 45 的 Sp Cas9 切口酶编码序列

[0038]

SEQ ID NO	说明
47	使用表 4 的低 A 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF，具有起始和终止密码子
48	使用表 4 的低 A 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF，具有起始和终止密码子并且无 NLS
49	使用表 4 的低 A 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF，具有两个 C 末端 NLS 序列以及起始和终止密码子
50	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF，具有起始和终止密码子
51	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF，具有两个 C 末端 NLS 序列以及起始和终止密码子
52	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF，具有起始和终止密码子并且无 NLS
53	使用表 4 的低 A 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF (无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)
54	使用表 4 的低 A 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF (无 NLS 并且无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)
55	使用表 4 的低 A 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF，具有两个 C 末端 NLS 序列(无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)
56	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF (无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)
57	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF，具有两个 C 末端 NLS 序列(无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)
58	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Sp Cas9 切口酶 ORF (无 NLS 并且无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)
59	示例性 NLS 1
60	示例性 NLS 2
61	示例性 NLS 3
62	示例性 NLS 4
63	示例性 NLS 5
64	示例性 NLS 6
65	示例性 NLS 7

[0039]

SEQ ID NO	说明
66	示例性 NLS 8
67	示例性 NLS 9
68	示例性 NLS 10
69	示例性 NLS 11
70	交替性 SV40 NLS
71	核质蛋白 NLS
72	示例性接头的氨基酸序列
73	示例性接头的氨基酸序列
74	示例性接头的氨基酸序列
75	示例性接头的氨基酸序列
76	示例性接头的氨基酸序列
77	示例性接头的氨基酸序列
78	示例性接头的氨基酸序列
79	示例性接头的氨基酸序列
80	示例性接头的氨基酸序列
81	示例性接头的氨基酸序列
82	示例性接头的氨基酸序列
83	示例性接头的氨基酸序列
84	示例性接头的氨基酸序列
85	示例性接头的氨基酸序列
86	示例性接头的氨基酸序列
87	示例性接头的氨基酸序列
88	示例性接头的氨基酸序列
89	示例性接头的氨基酸序列
90	示例性接头的氨基酸序列
91	示例性接头的氨基酸序列
92	示例性接头的氨基酸序列
93	示例性接头的氨基酸序列
94	示例性接头的氨基酸序列
95	示例性接头的氨基酸序列
96	示例性接头的氨基酸序列
97	示例性接头的氨基酸序列
98	示例性接头的氨基酸序列
99	示例性接头的氨基酸序列

[0040]

SEQ ID NO	说明
100	示例性接头的氨基酸序列
101	示例性接头的氨基酸序列
102	示例性接头的氨基酸序列
103	示例性接头的氨基酸序列
104	示例性接头的氨基酸序列
105	示例性接头的氨基酸序列
106	示例性接头的氨基酸序列
107	示例性接头的氨基酸序列
108	示例性接头的氨基酸序列
109	示例性接头的氨基酸序列
110	示例性接头的氨基酸序列
111	示例性接头的氨基酸序列
112	示例性接头的氨基酸序列
113	示例性接头的氨基酸序列
114	示例性接头的氨基酸序列
115	示例性接头的氨基酸序列
116	示例性接头的氨基酸序列
117	示例性接头的氨基酸序列
118	示例性接头的氨基酸序列
119	示例性接头的氨基酸序列
120	示例性接头的氨基酸序列
121	示例性接头的氨基酸序列
122	示例性接头的氨基酸序列
123	示例性接头的氨基酸序列
124	示例性接头的氨基酸序列
125	示例性接头的氨基酸序列
126	示例性接头的氨基酸序列
127	示例性接头的氨基酸序列
128	示例性接头的氨基酸序列
129	示例性接头的氨基酸序列
130	示例性接头的氨基酸序列
131	示例性接头的氨基酸序列
132	示例性接头的氨基酸序列
133	示例性接头的氨基酸序列

[0041]

SEQ ID NO	说明
134	编码 APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性 mRNA
135	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性开放阅读框
136	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性氨基酸序列
137	编码 APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性 mRNA
138	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性开放阅读框
139	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性氨基酸序列
140	编码 APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性 mRNA
141	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性开放阅读框
142	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性氨基酸序列
143	编码 APOBEC3A-NME2D16A 的示例性 MRNA
144	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性开放阅读框
145	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性氨基酸序列
146	NLS-NLS-APOBEC3A-L070-Nme2D16A 的示例性氨基酸序列
147	编码 BC22-Nme2D16A (Nme2 BC22n)的 mRNA
148	具有接头 L070 的碱基编辑器的氨基酸序列
149	D16A Nme2Cas9 切口酶的氨基酸序列
150	D16A Nme2Cas9 切口酶的编码序列
151	D16A Nme2Cas9 切口酶的编码序列
152	D16A Nme2Cas9 切口酶的编码序列
153	D16A Nme2Cas9 切口酶的开放阅读框
154	D16A Nme2Cas9 切口酶的开放阅读框
155	D16A Nme2Cas9 切口酶的开放阅读框
156	Cas9 氨基酸序列
157	由 mRNA C 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列
158	由 mRNA H 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列
159	由 mRNA I 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列
160	由 mRNA J 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列
161	由 mRNA K 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列
162	由 mRNA L 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列
163	由 mRNA M 编码的带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的氨基酸序列
164	由 mRNA N 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列
165	由 mRNA O 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列

[0042]

SEQ ID NO	说明
166	由 mRNA P 编码的带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的氨基酸序列
167	由 mRNA Q 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列
168	编码 Nme2Cas9 的 mRNA C
169	编码 Nme2Cas9 的 mRNA H
170	编码 Nme2Cas9 的 mRNA I
171	编码 Nme2Cas9 的 mRNA J
172	编码 Nme2Cas9 的 mRNA K
173	编码 Nme2Cas9 的 mRNA L
174	编码带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的 mRNA M
175	编码 Nme2Cas9 的 mRNA N
176	编码 Nme2Cas9 的 mRNA O
177	编码带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的 mRNA P
178	编码 Nme2Cas9 的 mRNA Q
179	编码 Nme2Cas9 碱基编辑器的 mRNA S
180	由 mRNA C 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框
181	由 mRNA H 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框
182	由 mRNA I 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框
183	由 mRNA J 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框
184	由 mRNA K 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框
185	由 mRNA L 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框
186	由 mRNA M 编码的带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的开放阅读框
187	由 mRNA N 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框
188	由 mRNA O 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框
189	由 mRNA P 编码的带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的开放阅读框
190	由 mRNA Q 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框
191	Nme1Cas9 裂解酶的示例性氨基酸序列
192	编码 Nme1Cas9 裂解酶的示例性编码序列
193	编码 Nme1Cas9 裂解酶的示例性编码序列
194	编码 Nme1Cas9 裂解酶的示例性编码序列
195	Nme1Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框
196	Nme1Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框

[0043]

SEQ ID NO	说明
197	Nme1Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框
198	Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性氨基酸序列
199	编码 Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性编码序列
200	编码 Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性编码序列
201	编码 Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性编码序列
202	Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性开放阅读框
203	Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性开放阅读框
204	Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性开放阅读框
205	Nme2Cas9 裂解酶的示例性氨基酸序列
206	编码 Nme2Cas9 裂解酶的示例性编码序列
207	编码 Nme2Cas9 裂解酶的示例性编码序列
208	编码 Nme2Cas9 裂解酶的示例性编码序列
209	Nme2Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框
210	Nme2Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框
211	Nme2Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框
212	Nme3Cas9 裂解酶的示例性氨基酸序列
213	编码 Nme3Cas9 裂解酶的示例性编码序列
214	编码 Nme3Cas9 裂解酶的示例性编码序列
215	编码 Nme3Cas9 裂解酶的示例性编码序列
216	Nme3Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框
217	Nme3Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框
218	Nme3Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框
219	Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性氨基酸序列
220	编码 Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性编码序列
221	编码 Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性编码序列
222	编码 Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性编码序列
223	Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性开放阅读框
224	Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性开放阅读框
225	Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性开放阅读框
226	示例性 SpyCas9 sgRNA-1
227	向导序列 3'端后的示例性核苷酸序列
228	示例性经修饰的 SpyCas9 基序
229	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
230	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序

[0044]

SEQ ID NO	说明
231	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
232	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
233	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
234	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
235	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
236	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
237	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
238	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
239	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
240	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
241	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
242	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序
243	示例性未经修饰的保守部分核苷酸序列
244	示例性未经修饰的保守部分核苷酸序列
245	示例性未经修饰的保守部分核苷酸序列
246	示例性经修饰的保守部分基序
247	示例性经修饰的保守部分基序
248	示例性经修饰的保守部分基序
249	示例性经修饰的保守部分基序
250	示例性经修饰的保守部分基序
251	G000562
252	G013515
253	G013519
254	G013520
255	G013523
256	G013533
257	G013543
258	G013559
259	G013562
260	G013563
261	G013564
262	G013565
263	G013582
264	G013584
265	G000562 (示例性全序列)
266	G013515 (示例性全序列)

[0045]

SEQ ID NO	说明
267	G013519 (示例性全序列)
268	G013520 (示例性全序列)
269	G013523 (示例性全序列)
270	G013533 (示例性全序列)
271	G013543 (示例性全序列)
272	G013559 (示例性全序列)
273	G013562 (示例性全序列)
274	G013563 (示例性全序列)
275	G013564 (示例性全序列)
276	G013565 (示例性全序列)
277	G013582 (示例性全序列)
278	G013584 (示例性全序列)
279	G000562 (示例性经修饰序列)
280	G013515 (示例性经修饰序列)
281	G013519 (示例性经修饰序列)
282	G013520 (示例性经修饰序列)
283	G013523 (示例性经修饰序列)
284	G013533 (示例性经修饰序列)
285	G013543 (示例性经修饰序列)
286	G013559 (示例性经修饰序列)
287	G013562 (示例性经修饰序列)
288	G013563 (示例性经修饰序列)
289	G013564 (示例性经修饰序列)
290	G013565 (示例性经修饰序列)
291	G013582 (示例性经修饰序列)
292	G013584 (示例性经修饰序列)
293	Cas9 的开放阅读框
294	Cas9 的氨基酸序列
295	Cas9 的开放阅读框
296	Cas9-NLS 的氨基酸序列
297	在 TRAC G013006 切割位点侧翼具有同源臂的 TCR 插入构建体-包括 ITR
298	双向 SERPINA 插入构建体

[0046]

SEQ ID NO	说明
299	具有与小鼠 AAVS1 的同源臂的模板 A eGFP 插入构建体
300	具有与小鼠 AAVS1 的同源臂的模板 B eGFP 插入构建体
301	具有与小鼠 AAVS1 的同源臂的模板 C eGFP 插入构建体
302	具有与小鼠 AAVS1 的同源臂的模板 D eGFP 插入构建体
303	具有与小鼠 AAVS1 的同源臂的模板 OG eGFP 插入构建体
304	双向 NanoLuc 插入构建体
305	Nme2 Cas9 的开放阅读框
306	Sp 碱基编辑器 BC22n 的开放阅读框
307	Sp Cas9 的开放阅读框
308	Nme2 碱基编辑器 BC22n 的开放阅读框
309	尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI)的开放阅读框
310	编码 Nme2 碱基编辑器的开放阅读框
311	Nme2 碱基编辑器的氨基酸序列
312	示例性经修饰的 Nme 向导 sgRNA
313	示例性经修饰的 Nme 向导 sgRNA
314	示例性经修饰的 Nme 向导 sgRNA
315-399	向导序列或向导 RNA 全序列或经修饰序列(参见表 21)
400	示例性 NmeCas9 sgRNA-1

具体实施方式

[0047] 本公开提供了例如使细胞与至少两种基因组编辑工具接触并且用于多重基因组编辑的平台方法。所述方法例如在细胞中提供多重基因组编辑,而无显著细胞副作用。所述方法也提供了以更少的步骤向细胞递送多种基因组编辑工具,从而容许在更短的时间段内进行多重编辑。

[0048] 在一些实施方案中,所述平台涉及在体外制备细胞以用于随后向受试者进行治疗性施用的制造方法。在一些实施方案中,所述平台涉及经由同时或依序施用包含至少两种基因组编辑工具的脂质纳米颗粒(LNP)的多重基因组编辑。所述平台与任何细胞类型都相关,但在制备需要多重基因组编辑以获得完全治疗适用性的细胞(例如原代免疫细胞)中尤其有利。与先前递送技术相比,所述方法可展现出改进的性质;例如,所述方法提供核酸(例如所述至少两种基因组编辑工具)的高效递送,同时提供更大的细胞存活和扩增。如本文所提供,平台方法适用于“细胞”或适用于“细胞群体”(或“细胞的群体”)。当本文提及“细胞”

的递送或基因编辑方法时,应理解,所述方法可用于“细胞群体”的递送或基因编辑。

[0049] 在一些实施方案中,本文提供了一种对细胞进行遗传修饰的方法,所述方法包括:(a)使所述细胞与第一基因组编辑工具接触,其中所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第一基因组编辑器同源的向导RNA(gRNA);以及(b)使所述细胞与第二基因组编辑工具接触,其中所述第二基因组编辑工具包含第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第二基因组编辑器同源的gRNA,其中所述第一基因组编辑器与所述第二基因组编辑器正交,由此在所述细胞中产生至少两种基因组编辑物。

[0050] 在一些实施方案中,本文提供了一种对细胞进行遗传修饰的方法,所述方法包括:(a)使所述细胞与第一基因组编辑工具接触,所述第一基因组编辑工具包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA);以及(b)使所述细胞与第二基因组编辑工具接触,所述第二基因组编辑工具包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交,由此在所述细胞中产生至少两种基因组编辑物。

[0051] 在一些实施方案中,本文提供了一种产生包含经编辑细胞的细胞群体的方法,所述方法包括:(a)使所述细胞与第一基因组编辑工具接触,所述第一基因组编辑工具包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA);(b)使所述细胞与第二基因组编辑工具接触,所述第二基因组编辑工具包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交;以及(c)培养所述细胞,由此产生所述包含经编辑细胞的细胞群体,所述经编辑细胞的每个细胞包含至少两种基因组编辑物。

[0052] 在一些实施方案中,本文提供了一种组合物,所述组合物包含:(a)第一基因组编辑工具,其中所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第一基因组编辑器同源的向导RNA(gRNA);和(b)第二基因组编辑工具,其中所述第二基因组编辑工具包含第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第二基因组编辑器同源的gRNA,其中所述第一基因组编辑器与所述第二基因组编辑器正交。

[0053] 在一些实施方案中,本文提供了一种组合物,所述组合物包含:(a)第一基因组编辑工具,其中所述第一基因组编辑工具包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA);和(b)第二基因组编辑工具,所述第二基因组编辑工具包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交。

[0054] 在一些实施方案中,本文提供了一种在体外用本文所公开的任何方法或组合物处理的细胞。在一些实施方案中,本文提供了一种在体内用本文所公开的任何方法或组合物处理的细胞。在一些实施方案中,本文提供了一种包含本文所公开的任何细胞的细胞群体。

[0055] 在一些实施方案中,本文提供了本文所公开的任何细胞、细胞群体或组合物的用

途,其用于治疗癌症。在一些实施方案中,本文提供了本文所公开的任何细胞、细胞群体或组合物的用途,其用于制备用以治疗癌症的药剂。

[0056] 在一些实施方案中,本文提供了一种工程化细胞,其包含在至少三个基因组基因座中的至少三种碱基编辑物以及至少一个外源基因。

[0057] 在一些实施方案中,本文提供了一种组合物,所述组合物包含:a.gRNA,其包含选自以下的向导序列:i)SEQ ID NO:251-264;ii)选自SEQ ID NO:251-264的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;iii)与选自SEQ ID NO:251-264的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;iv)包含表5中所列示的基因组坐标的10个邻接核苷酸±10个核苷酸的序列;v)来自(iv)的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;或vi)与选自(v)的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;或b.编码(a.)的gRNA的核酸。

[0058] 在一些实施方案中,本文提供了一种改变AAVS1基因内的DNA序列的方法,所述方法包括向细胞递送:a.gRNA,其包含选自以下的向导序列:i)SEQ ID NO:251-264;ii)选自SEQ ID NO:251-264的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;iii)与选自SEQ ID NO:251-264的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;iv)包含表5中所列示的基因组坐标的10个邻接核苷酸±10个核苷酸的序列;v)来自(iv)的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;或vi)与选自(v)的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;或b.编码(a.)的gRNA的核酸。

[0059] 在一些实施方案中,本文提供了一种免疫治疗方法,其包括向受试者施用包含工程化细胞的组合物,其中所述细胞包含AAVS1基因中的基因组修饰,其中遗传修饰包含选自以下的基因组坐标内的插入:chr19:55115695-55115715;chr1 9:55115588-55115608;chr19:55115616-55115636;chr19:55115623-55115643;chr19:55115637-55115657;chr19:55115691-55115711;chr19:55115755-55115775;chr19:55115823-55115843;chr19:55115834-55115854;chr19:55115835-55115855;chr19:55115836-55115856;chr19:55115850-55115870;chr19:55115951-55115971;和chr19:55115949-55115969;或其中通过向所述细胞中递送以下物质使所述细胞工程化:a.gRNA,其包含选自以下的向导序列:i)SEQ ID NO:251-264;ii)选自SEQ ID NO:251-264的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;iii)与选自SEQ ID NO:251-264的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;iv)包含表5中所列示的基因组坐标的10个邻接核苷酸±10个核苷酸的序列;v)来自(iv)的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;或vi)与选自(v)的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;或b.编码(a.)的gRNA的核酸。

[0060] 在一些实施方案中,本文提供了一种工程化细胞,其包含AAVS 1基因中的遗传修饰,其中所述遗传修饰包含选自以下的基因组坐标内的插入:chr19:55115695-55115715;chr19:55115588-55115608;ch r19:55115616-55115636;chr19:55115623-55115643;chr19:55115637-55115657;chr19:55115691-55115711;chr19:55115755-55115775;chr19:55115823-55115843;chr19:55115834-55115854;chr19:55115835-55115855;chr19:55115836-55115856;chr19:55115850-55115870;ch r19:55115951-55115971;和chr19:55115949-55115969。

[0061] 本文提供了以下编号实施方案:

[0062] 实施方案1是一种对细胞进行遗传修饰的方法,所述方法包括:

[0063] (a)使所述细胞与第一基因组编辑工具接触,其中所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第一基因组编辑器同源的向导RNA(gRNA);以及

[0064] (b)使所述细胞与第二基因组编辑工具接触,其中所述第二基因组编辑工具包含第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第二基因组编辑器同源的gRNA,其中所述第一基因组编辑器与所述第二基因组编辑器正交,

[0065] 由此在所述细胞中产生至少两种基因组编辑物。

[0066] 实施方案2是如实施方案1所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述第二基因组编辑器是作为至少一种多肽或至少一种编码所述多肽的多核苷酸递送至所述细胞。

[0067] 实施方案3是如实施方案2所述的方法,其中所述至少一种多核苷酸为至少一种mRNA。

[0068] 实施方案4是如实施方案1-3中任一项所述的方法,其中所述至少一种gRNA是作为至少一种编码所述gRNA的多核苷酸递送至所述细胞。

[0069] 实施方案5是如实施方案1-4中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器包含裂解酶、切口酶、无催化活性的核酸酶、碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,或包含DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白。

[0070] 实施方案6是如实施方案1-5中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器包含裂解酶、切口酶、无催化活性的核酸酶、碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,或包含DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白。

[0071] 实施方案7是如实施方案1-6中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含裂解酶。

[0072] 实施方案8是如实施方案7所述的方法,所述方法还包括使所述细胞与编码外源基因的核酸接触。

[0073] 实施方案9是如实施方案1-6中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含C至T碱基编辑器,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含A至G碱基编辑器。

[0074] 实施方案10是如实施方案1-9中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含脑膜炎奈瑟菌(N.meningitidis)(Nme)RNA引导的切口酶或裂解酶,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含酿脓链球菌(S.pyogenes)(Spy)RNA引导的切口酶或裂解酶。

[0075] 实施方案11是如实施方案1-10中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述第二基因组编辑器包含Cas核酸酶。

[0076] 实施方案12是如实施方案11所述的方法,其中所述Cas核酸酶为2类Cas核酸酶。

[0077] 实施方案13是如实施方案11所述的方法,其中所述Cas核酸酶为Cas9。

[0078] 实施方案14是如实施方案13所述的方法,其中所述Cas9为酿脓链球菌Cas9(SpyCas9)、金黄色葡萄球菌(S.aureus)Cas9(SauCas9)、白喉棒状杆菌(C.diphtheriae)Cas9(CdiCas9)、嗜热链球菌(Streptococcus thermophilus)Cas9(St1Cas9)、解纤维素乙酸弧菌(A.cellulolyticus)Cas9(AceCas9)、空肠弯曲杆菌(C.jejuni)Cas9(CjeCas9)、沼

泽红假单胞菌(R.palustris)Cas9(RpaCas9)、深红红螺菌(R.rubrum)Cas9(RruCas9)、内氏放线菌(A.naeslundii)Cas9(AnaCas9)、新凶手弗朗西斯氏菌(Francisella novicida)Cas9(FnoCas9)或脑膜炎奈瑟菌(NmeCas9)。

[0079] 实施方案15是如实施方案13或实施方案14所述的方法,其中所述Cas9为Nme1Cas9、Nme2Cas9、Nme3Cas9或SpyCas9。

[0080] 实施方案16是一种对细胞进行遗传修饰的方法,所述方法包括:

[0081] (a)使所述细胞与第一基因组编辑工具接触,所述第一基因组编辑工具包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA);以及

[0082] (b)使所述细胞与第二基因组编辑工具接触,所述第二基因组编辑工具包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交,

[0083] 由此在所述细胞中产生至少两种基因组编辑物。

[0084] 实施方案17是一种产生包含经编辑细胞的细胞群体的方法,所述方法包括:

[0085] (a)使所述细胞与第一基因组编辑工具接触,所述第一基因组编辑工具包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA);

[0086] (b)使所述细胞与第二基因组编辑工具接触,所述第二基因组编辑工具包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交;以及

[0087] (c)培养所述细胞,由此产生所述包含经编辑细胞的细胞群体,所述经编辑细胞的每个细胞包含至少两种基因组编辑物。

[0088] 实施方案18是如实施方案16或17所述的方法,其中所述碱基编辑器为C至T碱基编辑器,任选地包含胞苷脱氨酶,或为A至G碱基编辑器,任选地包含腺苷脱氨酶。

[0089] 实施方案19是如实施方案1-18中任一项所述的方法,其中所述至少两种基因组编辑物中的一者包含双链断裂,并且所述至少两种基因组编辑物中的另一者包含转变(例如A至G或C至T)。

[0090] 实施方案20是如实施方案1-19中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具经由电穿孔递送至所述细胞。

[0091] 实施方案21是如实施方案1-20中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具是经由至少一种脂质纳米颗粒(LNP)递送至所述细胞。

[0092] 实施方案22是如实施方案1-21中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具在至少一种载体上递送至所述细胞。

[0093] 实施方案23是如实施方案1-22中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具是作为至少一种编码所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具的核酸递送。

[0094] 实施方案24是如实施方案23所述的方法,其中所述至少一种核酸包含至少一种mRNA。

[0095] 实施方案25是如实施方案1-24所述的方法,其中步骤(a)与步骤(b)是同时实施

的。

[0096] 实施方案26是如实施方案1-25中任一项所述的方法,其中步骤(a)与步骤(b)是以任何顺序在约5分钟、10分钟、15分钟、30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时或24小时的时间段内实施。

[0097] 实施方案27是如实施方案1-26中任一项所述的方法,其中步骤(a)与步骤(b)各自在约5分钟、10分钟、15分钟、30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时或24小时的时间段内独立地实施。

[0098] 实施方案28是如实施方案16-27中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑工具包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),并且所述UGI与所述碱基编辑器包含在单一多肽中。

[0099] 实施方案29是如实施方案16-27中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑工具包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),并且所述UGI与所述碱基编辑器包含在不同多肽中。

[0100] 实施方案30是如实施方案28或29所述的方法,其中所述碱基编辑器包含胞苷脱氨酶和RNA引导的切口酶。

[0101] 实施方案31是如实施方案30所述的方法,其中所述胞苷脱氨酶、所述RNA引导的切口酶和所述UGI包含在单一多肽中。

[0102] 实施方案32是如实施方案30所述的方法,其中所述胞苷脱氨酶、所述RNA引导的切口酶和所述UGI包含在不同多肽中。

[0103] 实施方案33是如实施方案30所述的方法,其中所述胞苷脱氨酶与所述RNA引导的切口酶包含在单一多肽中,并且其中所述UGI包含在不同多肽中。

[0104] 实施方案34是如实施方案1-33中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器包含与SEQ ID NO:3、146或311至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。

[0105] 实施方案35是如实施方案1-34中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:1至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞,并且所述第二基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:180-190中的任一者至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞。

[0106] 实施方案36是如实施方案1-35中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:147或310至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞,并且所述第二基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:293或295至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞。

[0107] 实施方案37是如实施方案1-33中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含与SEQ ID NO:9、12、18和21中的任一者至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。

[0108] 实施方案38是如实施方案1-37中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含胞苷脱氨酶,并且其中所述胞苷脱氨酶包含与SEQ ID NO:22至少80%、85%、87%、90%、95%、98%、99%或100%同一的氨基酸序列。

[0109] 实施方案39是如实施方案38所述的方法,其中所述胞苷脱氨酶包含APOBEC3A脱氨酶(A3A)。

[0110] 实施方案40是如实施方案39所述的方法,其中所述A3A包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列或与SEQ ID NO:22至少87%、90%、95%、98%或99%同一的氨基酸序列。

[0111] 实施方案41是如实施方案39或40所述的方法,其中所述A3A为人类A3A。

[0112] 实施方案42是如实施方案39-41中任一项所述的方法,其中所述A3A为野生型A3A。

[0113] 实施方案43是如实施方案1-42中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含Cas9切口酶。

[0114] 实施方案44是如实施方案1-43中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)Cas9切口酶。

[0115] 实施方案45是如实施方案1-44中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含D16A NmeCas9切口酶,任选地为D16A Nme2Cas9。

[0116] 实施方案46是如实施方案1-45中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列。

[0117] 实施方案47是如实施方案1-46中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含与SEQ ID NO:146的氨基酸序列至少80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%同一的序列。

[0118] 实施方案48是如实施方案1-47中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含Cas9裂解酶。

[0119] 实施方案49是如实施方案1-48中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含酿脓链球菌(Spy)Cas9裂解酶。

[0120] 实施方案50是如实施方案1-49中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含与SEQ ID NO:156至少90%同一的氨基酸序列。

[0121] 实施方案51是如实施方案1-50中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列。

[0122] 实施方案52是如实施方案1-43中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含酿脓链球菌(SPy)Cas9切口酶。

[0123] 实施方案53是如实施方案1-43和52中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含D10A SpyCas9切口酶。

[0124] 实施方案54是如实施方案1-43、52和53中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含SEQ ID NO:41、43和45中的任一者的氨基酸序列或与SEQ ID NO:41、43和45中的任一者具有至少80%、90%、95%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0125] 实施方案55是如实施方案1-43和52-54中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器是作为包含SEQ ID NO:42、44和46中的任一者的核苷酸序列或与SEQ ID NO:42、44和46中的任一者具有至少80%、90%、95%、98%或99%同一性的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞。

[0126] 实施方案56是如实施方案1-43和52-54中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器是作为包含SEQ ID NO:42、44和46-58中的任一者的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞。

[0127] 实施方案57是如实施方案1-43和52-54中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器是作为包含与SEQ ID NO:1至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞。

[0128] 实施方案58是如实施方案1-43和52-54中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器是作为包含与SEQ ID NO:4至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞。

[0129] 实施方案59是如实施方案1-43和52-56中任一项所述的方法,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含与SEQ ID NO:148至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。

[0130] 实施方案60是如实施方案1-43和52-59中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)Cas9裂解酶。

[0131] 实施方案61是如实施方案1-43和52-60中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含与SEQ ID NO:157-167、191、198、205、212和219中的任一者至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一的氨基酸序列。

[0132] 实施方案62是如实施方案1-43和52-61中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含SEQ ID NO:157-167、191、198、205、212和219中的任一者的氨基酸序列。

[0133] 实施方案63是如实施方案1-43和52-61中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶是作为包含与SEQ ID NO:168-190、192-197、199-204、206-211、213-218和220-225中的任一者至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞。

[0134] 实施方案64是如实施方案1-43和52-61中任一项所述的方法,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶是作为包含SEQ ID NO:168-190、192-197、199-204、206-211、213-218和220-225中的任一者的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞。

[0135] 实施方案65是如实施方案1-64中任一项所述的方法,其中至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶不同源。

[0136] 实施方案66是如实施方案1-65中任一项所述的方法,其中至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器不同源。

[0137] 实施方案67是如实施方案1-66中任一项所述的方法,其中所述至少一种gRNA包含至少一种单一向导RNA(sgRNA)。

[0138] 实施方案68是如实施方案67所述的方法,其中所述至少一种sgRNA包含短单一向导RNA(短sgRNA),所述短sgRNA包含含有发夹区的sgRNA保守部分,其中所述发夹区缺少至少5-10个核苷酸并且其中所述短sgRNA包含5′端修饰或3′端修饰或两者。

[0139] 实施方案69是如实施方案1-68中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少两种靶向至少两个不同基因组基因座的gRNA。

[0140] 实施方案70是如实施方案1-69中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第

二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少两种靶向至少两个不同基因组基因座的gRNA。

[0141] 实施方案71是如实施方案1-70中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少三种靶向至少三个不同基因组基因座的gRNA。

[0142] 实施方案72是如实施方案1-71中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少三种靶向至少三个不同基因组基因座的gRNA。

[0143] 实施方案73是如实施方案1-72中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少四种靶向至少四个不同基因组基因座的gRNA。

[0144] 实施方案74是如实施方案1-73中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少四种靶向至少四个不同基因组基因座的gRNA。

[0145] 实施方案75是如实施方案1-74中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少五种靶向至少五个不同基因组基因座的gRNA。

[0146] 实施方案76是如实施方案1-75中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少五种靶向至少五个不同基因组基因座的gRNA。

[0147] 实施方案77是如实施方案1-76中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少六种靶向至少六个不同基因组基因座的gRNA。

[0148] 实施方案78是如实施方案1-77中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少六种靶向至少六个不同基因组基因座的gRNA。

[0149] 实施方案79是如实施方案1-78中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA靶向一个或多个选自以下的基因组基因座:TRBC基因座、HLA-A基因座、HLA-B基因座、CIITA基因座、HLA-DR基因座、HLA-DQ基因座和HLA-DP基因座。

[0150] 实施方案80是如实施方案1-79中任一项所述的方法,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA靶向一个或多个选自以下的基因组基因座:TRAC基因座、AAVS1基因座和CIITA基因座。

[0151] 实施方案81是如实施方案1-80中任一项所述的方法,其中

[0152] (i)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0153] (ii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的

gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0154] (iii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0155] (iv)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0156] (v)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0157] (vi)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0158] (vii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0159] (viii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0160] (ix)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA、靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述CIITA基因座的gRNA和靶向所述HLA-A基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0161] (x)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述AAVS1基因座的gRNA;

[0162] (xi)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述AAVS1基因座的gRNA;

[0163] (xii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述AAVS1基因座的gRNA;或

[0164] (xiii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述AAVS1基因座的gRNA。

[0165] 实施方案82是如实施方案1-81中任一项所述的方法,所述方法还包括使所述细胞与编码用于插入至所述TRAC或所述AAVS1基因座中的外源基因的核酸接触。

[0166] 实施方案83是如实施方案82所述的方法,其中在子部分(i)至(ix)中的任一者中,所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述AAVS1基因座的另一gRNA。

[0167] 实施方案84是如实施方案82所述的方法,其中在子部分(x)至(xiii)中的任一者中,所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的另一gRNA。

[0168] 实施方案85是如实施方案84所述的方法,其中在使所述细胞与靶向所述TRAC基因座的所述gRNA接触后,使所述细胞与靶向所述AAVS1基因座的所述另一gRNA接触。

[0169] 实施方案86是如实施方案85所述的方法,其中在使所述细胞与靶向所述AAVS1基因座的所述gRNA接触后,使所述细胞与靶向所述TRAC基因座的所述另一gRNA接触。

[0170] 实施方案87是一种组合物,所述组合物包含:

[0171] (a)第一基因组编辑工具,其中所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第一基因组编辑器同源的向导RNA(gRNA);和

[0172] (b)第二基因组编辑工具,其中所述第二基因组编辑工具包含第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第二基因组编辑器同源的gRNA,其中所述第一基因组编辑器与所述第二基因组编辑器正交。

[0173] 实施方案88是如实施方案87所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述第二基因组编辑器包含至少一种多肽或至少一种mRNA。

[0174] 实施方案89是如实施方案87或88所述的组合物,其中所述至少一种gRNA包含至少一种编码所述gRNA的多核苷酸。

[0175] 实施方案90是如实施方案87-89中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器包含裂解酶、切口酶、无催化活性的核酸酶、碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,或包含DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白。

[0176] 实施方案91是如实施方案87-90中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器包含裂解酶、切口酶、无催化活性的核酸酶、碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,或包含DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白。

[0177] 实施方案92是如实施方案87-91中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编

辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含裂解酶。

[0178] 实施方案93是如实施方案92所述的组合物,所述组合物还包含编码外源基因的核酸。

[0179] 实施方案94是如实施方案87-91中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含C至T碱基编辑器,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含A至G碱基编辑器。

[0180] 实施方案95是如实施方案87-94中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的-者包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)RNA引导的切口酶,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含酿脓链球菌(Spy)RNA引导的切口酶。

[0181] 实施方案96是如实施方案87-95中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述第二基因组编辑器为Cas核酸酶。

[0182] 实施方案97是如实施方案96所述的组合物,其中所述Cas核酸酶为2类Cas核酸酶。

[0183] 实施方案98是如实施方案96所述的组合物,其中所述Cas核酸酶为Cas9。

[0184] 实施方案99是如实施方案98所述的组合物,其中所述Cas9为酿脓链球菌Cas9(SpyCas9)、金黄色葡萄球菌Cas9(SauCas9)、白喉棒状杆菌Cas9(CdiCas9)、嗜热链球菌Cas9(St1Cas9)、解纤维素乙酸弧菌Cas9(AceCas9)、空肠弯曲杆菌Cas9(CjeCas9)、沼泽红假单胞菌Cas9(RpaCas9)、深红红螺菌Cas9(RruCas9)、内氏放线菌Cas9(AnaCas9)、新凶手弗朗西斯氏菌Cas9(FnoCas9)或脑膜炎奈瑟菌(NmeCas9)。

[0185] 实施方案100是如实施方案98或99所述的组合物,其中所述Cas9为Nme 1Cas9、Nme2Cas9、Nme3 Cas9或SpyCas9。

[0186] 实施方案101是一种组合物,所述组合物包含:

[0187] (a)第一基因组编辑工具,其中所述第一基因组编辑工具包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA);和

[0188] (b)第二基因组编辑工具,所述第二基因组编辑工具包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交。

[0189] 实施方案102是如实施方案101所述的组合物,其中所述碱基编辑器为C至T碱基编辑器,任选地包含胞苷脱氨酶,或为A至G碱基编辑器,任选地包含腺苷脱氨酶。

[0190] 实施方案103是如实施方案87-102中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具经由电穿孔递送至细胞。

[0191] 实施方案104是如实施方案87-103中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具含于至少一种脂质纳米颗粒(LNP)中。

[0192] 实施方案105是如实施方案87-104中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具包含至少一种载体。

[0193] 实施方案106是如实施方案87-105中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具包含至少一种多肽或至少一种编码所述第一基因组

编辑工具或所述第二基因组编辑工具的核酸。

[0194] 实施方案107是如实施方案87-106中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑工具包含至少一种包含所述第一基因组编辑工具的多肽或至少一种编码所述第一基因组编辑工具的核酸。

[0195] 实施方案108是如实施方案87-107中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑工具包含至少一种包含所述第二基因组编辑工具的多肽或至少一种编码所述第二基因组编辑工具的核酸。

[0196] 实施方案109是如实施方案106-108中任一项所述的组合物,其中所述至少一种核酸包含至少一种mRNA。

[0197] 实施方案110是如实施方案101-109中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑工具包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),并且所述UGI与所述碱基编辑器包含在单一多肽中。

[0198] 实施方案111是如实施方案101-109中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑工具包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),并且所述UGI与所述碱基编辑器包含在不同多肽中。

[0199] 实施方案112是如实施方案110或111所述的组合物,其中所述碱基编辑器包含胞苷脱氨酶和RNA引导的切口酶。

[0200] 实施方案113是如实施方案112所述的组合物,其中所述胞苷脱氨酶、所述RNA引导的切口酶和所述UGI包含在单一多肽中。

[0201] 实施方案114是如实施方案112所述的组合物,其中所述胞苷脱氨酶、所述RNA引导的切口酶和所述UGI包含在不同多肽中。

[0202] 实施方案115是如实施方案112所述的组合物,其中所述胞苷脱氨酶与所述RNA引导的切口酶包含在单一多肽中,并且其中所述UGI包含在不同多肽中。

[0203] 实施方案116是如实施方案87-115中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器包含与SEQ ID NO:3、146或311至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。

[0204] 实施方案117是如实施方案87-116中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:1至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至细胞,并且所述第二基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:180-190中的任一者至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至细胞。

[0205] 实施方案118是如实施方案87-117中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:147或310至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至细胞,并且所述第二基因组编辑器是作为包含与SEQ ID NO:293或295至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至细胞。

[0206] 实施方案119是如实施方案87-115中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含与SEQ ID NO:9、12、18和21中的任一者至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。

[0207] 实施方案120是如实施方案87-119中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含胞苷脱氨酶,并且其中所述胞苷脱氨酶包含与SEQ ID NO:22

至少80％、85％、87％、90％、95％、98％、99％或100％同一的氨基酸序列。

[0208] 实施方案121是如实施方案120所述的组合物,其中所述胞苷脱氨酶包含APOBEC3A脱氨酶(A3A)。

[0209] 实施方案122是如实施方案121所述的组合物,其中所述A3A包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列或与SEQ ID NO:22至少87％、90％、95％、98％或99％同一的氨基酸序列。

[0210] 实施方案123是如实施方案121或122所述的组合物,其中所述A3A为人类A3A。

[0211] 实施方案124是如实施方案121-123中任一项所述的组合物,其中所述A3A为野生型A3A。

[0212] 实施方案125是如实施方案87-124中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含Cas9切口酶。

[0213] 实施方案126是如实施方案87-125中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)Cas9切口酶。

[0214] 实施方案127是如实施方案87-126中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含D16A NmeCas9切口酶,任选地为D16A Nme2Cas9。

[0215] 实施方案128是如实施方案87-127中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列。

[0216] 实施方案129是如实施方案87-128中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含与SEQ ID NO:146的氨基酸序列至少80％、85％、90％、95％、98％、99％或100％同一的序列。

[0217] 实施方案130是如实施方案87-129中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含Cas9裂解酶。

[0218] 实施方案131是如实施方案87-130中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含酿脓链球菌(Spy)Cas9裂解酶。

[0219] 实施方案132是如实施方案87-131中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含与SEQ ID NO:156至少90％同一的氨基酸序列。

[0220] 实施方案133是如实施方案87-132中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列。

[0221] 实施方案134是如实施方案87-125中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含酿脓链球菌(Spy)Cas9切口酶。

[0222] 实施方案135是如实施方案87-125和134中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含D10ASpyCas9切口酶。

[0223] 实施方案136是如实施方案87-125、134和135中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含SEQ ID NO:41、43和45中的任一者的氨基酸序列或与SEQ ID NO:41、43和45中的任一者具有至少80％、90％、95％、98％或99％同一性的氨基酸序列。

[0224] 实施方案137是如实施方案87-125和134-136中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器是作为包含SEQ ID NO:42、44和46中的任一者的核苷酸序列或与SEQ ID NO:42、44和46中的任一者具有至少80％、90％、95％、98％或99％同一性的核苷酸序列的核酸递送至细胞。

[0225] 实施方案138是如实施方案87-125和134-137中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器是作为包含SEQ ID NO:42、44和46-58中的任一者的核苷酸序列的核酸递送至细胞。

[0226] 实施方案139是如实施方案87-125和134-138中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器是作为包含与SEQ ID NO:1至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至细胞。

[0227] 实施方案140是如实施方案87-125和134-138中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器是作为包含与SEQ ID NO:4至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列的核酸递送至细胞。

[0228] 实施方案141是如实施方案87-125和134-138中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含与SEQ ID NO:148至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。

[0229] 实施方案142是如实施方案87-125和134-141中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)Cas9裂解酶。

[0230] 实施方案143是如实施方案87-125和134-142中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含与SEQ ID NO:157-167、191、198、205、212和219中的任一者至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一的氨基酸序列。

[0231] 实施方案144是如实施方案87-124和134-143中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶包含SEQ ID NO:157-167、191、198、205、212和219中的任一者的氨基酸序列。

[0232] 实施方案145是如实施方案87-124和134-144中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶是作为包含与SEQ ID NO:168-190、192-197、199-204、206-211、213-218和220-225中的任一者至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一的核苷酸序列的核酸递送至细胞。

[0233] 实施方案146是如实施方案87-124和134-144中任一项所述的组合物,其中所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶是作为包含SEQ ID NO:168-190、192-197、199-204、206-211、213-218和220-225中的任一者的核苷酸序列的核酸递送至所述细胞。

[0234] 实施方案147是如实施方案87-146中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶不同源。

[0235] 实施方案148是如实施方案87-147中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器不同源。

[0236] 实施方案149是如实施方案87-148中任一项所述的组合物,其中所述至少一种gRNA包含至少一种单一向导RNA(sgRNA)。

[0237] 实施方案150是如实施方案149所述的组合物,其中所述至少一种sgRNA包含短单一向导RNA(短sgRNA),所述短sgRNA包含含有发夹区的sgRNA保守部分,其中所述发夹区缺少至少5-10个核苷酸并且其中所述短sgRNA包含5′端修饰或3′端修饰或两者。

[0238] 实施方案151是如实施方案87-150中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少两种靶向至少两个不同基因组基因座的gRNA。

[0239] 实施方案152是如实施方案87-151中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少两种靶向至少两个不同基因组基因座的gRNA。

[0240] 实施方案153是如实施方案87-152中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少三种靶向至少三个不同基因组基因座的gRNA。

[0241] 实施方案154是如实施方案87-153中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少三种靶向至少三个不同基因组基因座的gRNA。

[0242] 实施方案155是如实施方案87-154中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少四种靶向至少四个不同基因组基因座的gRNA。

[0243] 实施方案156是如实施方案87-155中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少四种靶向至少四个不同基因组基因座的gRNA。

[0244] 实施方案157是如实施方案87-156中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少五种靶向至少五个不同基因组基因座的gRNA。

[0245] 实施方案158是如实施方案87-157中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少五种靶向至少五个不同基因组基因座的gRNA。

[0246] 实施方案159是如实施方案87-158中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含至少六种靶向至少六个不同基因组基因座的gRNA。

[0247] 实施方案160是如实施方案87-159中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少六种靶向至少六个不同基因组基因座的gRNA。

[0248] 实施方案161是如实施方案151-160中任一项所述的组合物,其中所述第一基因组编辑器和所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源并且靶向不同基因组基因座的gRNA中的一者、两者、三者、四者、五者或六者含于同一脂质纳米颗粒(LNP)中。

[0249] 实施方案162是如实施方案87-161中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA靶向一个或多个选自以下的基因组基因座:TRBC基因座、HLA-A基因座、HLA-B基因座、CIITA基因座、HLA-DR基因座、HLA-DQ基因座和HLA-DP基因座。

[0250] 实施方案163是如实施方案87-162中任一项所述的组合物,其中所述至少一种与

所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA靶向一个或多个选自以下的基因组基因座:TRAC基因座、AAVS1基因座和CIITA基因座。

[0251] 实施方案164是如实施方案87-163中任一项所述的组合物,其中

[0252] (i)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0253] (ii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0254] (iii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0255] (iv)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0256] (v)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0257] (vi)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0258] (vii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0259] (viii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0260] (ix)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA、靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述CIITA基因座的gRNA和靶向所述HLA-A基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的gRNA;

[0261] (x)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述AAVS1基因座的gRNA;

[0262] (xi)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述AAVS1基因座的gRNA;

[0263] (xii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述AAVS1基因座的gRNA;或

[0264] (xiii)所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含靶向所述TRBC基因座的gRNA、靶向所述HLA-A基因座的gRNA、靶向所述HLA-B基因座的gRNA和靶向所述HLA-DR基因座、所述HLA-DQ基因座或所述HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述AAVS1基因座的gRNA。

[0265] 实施方案165是如实施方案87-164中任一项所述的组合物,所述组合物还包含编码用于插入至所述TRAC或所述AAVS1基因座中的外源基因的核酸。

[0266] 实施方案166是如实施方案164所述的组合物,其中在子部分(i)至(ix)中的任一者中,所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述AAVS1基因座的另一gRNA。

[0267] 实施方案167是如实施方案164所述的组合物,其中在子部分(x)至(xiii)中的任一者中,所述至少一种与所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向所述TRAC基因座的另一gRNA。

[0268] 实施方案168是如实施方案1、16、17、87和101中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含所述第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器,(iii)第三LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iv)第四LNP,其包含第二gRNA,(v)第五LNP,其包含第三gRNA,和(vi)第六LNP,其包含第四gRNA。

[0269] 实施方案169是如实施方案1、16、17、87和101中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含所述第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器,(iii)第三LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iv)第四LNP,其包含第二gRNA和第三gRNA,和(v)第五LNP,其包含第四gRNA。

[0270] 实施方案170是如实施方案1、16、17、87和101中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含所述第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含所述

第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iii)第三LNP,其包含第二gRNA,(iv)第四LNP,其包含第三gRNA,和(v)第五LNP,其包含第四gRNA。

[0271] 实施方案171是如实施方案1、16、17、87和101中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含所述第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iii)第三LNP,其包含第二gRNA和第三gRNA,和(iv)第四LNP,其包含第四gRNA。

[0272] 实施方案172是如实施方案1、16、17、87和101中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含所述第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器,(iii)第三LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iv)第四LNP,其包含第二gRNA、第三gRNA和第四gRNA。

[0273] 实施方案173是如实施方案1、16、17、87和101中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含所述第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iii)第三LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含第二gRNA,(iv)第四LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含第三gRNA,和(v)第五LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含第四gRNA。

[0274] 实施方案174是如实施方案1、16、17、87和101中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含所述第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iii)第三LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含第二gRNA和第三gRNA,和(iv)第四LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含第四gRNA。

[0275] 实施方案175是如实施方案168-174中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于第一至第四LNP、第一至第五LNP或第一至第六LNP中,以及包含第五gRNA的一种或多种额外LNP中。

[0276] 实施方案176是如实施方案175所述的方法或组合物,其中所述一种或多种额外LNP还包含第六gRNA。

[0277] 实施方案177是如实施方案176所述的方法或组合物,其中所述一种或多种额外LNP还包含第七gRNA。

[0278] 实施方案178是如实施方案177所述的方法或组合物,其中所述一种或多种额外LNP还包含第八gRNA。

[0279] 实施方案179是如实施方案178所述的方法或组合物,其中所述一种或多种额外LNP还包含第九gRNA。

[0280] 实施方案180是如实施方案179所述的方法或组合物,其中所述一种或多种额外LNP还包含第十gRNA。

[0281] 实施方案181是如实施方案168-180中任一项所述的方法或组合物,其中所述第二

基因组编辑器包含酿脓链球菌(Spy)Cas9裂解酶,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)Cas9切口酶,所述第一gRNA靶向所述TRAC基因座,所述第二gRNA靶向所述HLA-A基因座,所述第三gRNA靶向所述CIITA基因座,所述第四gRNA靶向所述HLA-B基因座,所述第五gRNA靶向所述TRBC基因座并且所述一种或多种额外gRNA各自靶向不同于所述TRAC基因座、所述HLA-A基因座、所述HLA-B基因座、所述CIITA基因座和所述TRBC基因座的基因座。

[0282] 实施方案182是如实施方案181所述的方法或组合物,其中所述第一gRNA包含SEQ ID NO:374或378的序列或与SEQ ID NO:374或378至少95%、90%或85%同一的序列,其中所述第二gRNA包含SEQ ID NO:366或370的序列或与SEQ ID NO:366或370至少95%、90%或85%同一的序列,其中所述第三gRNA包含SEQ ID NO:345或384的序列或与SEQ ID NO:345或384至少95%、90%或85%同一的序列,并且其中所述第四gRNA包含SEQ ID NO:363的序列或与SEQ ID NO:363至少95%、90%或85%同一的序列。

[0283] 实施方案183是如实施方案1-167中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于至少2、3、4、5、6、7、8、9或10种各自包含不同核酸组分的不同的脂质纳米颗粒(LNP)中。

[0284] 实施方案184是如实施方案183所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于4、5、6或7种各自包含不同核酸组分的不同的脂质纳米颗粒(LNP)中。

[0285] 实施方案185是如实施方案183所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于4种各自包含不同核酸组分的不同LNP中。

[0286] 实施方案186是如实施方案183所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于5种各自包含不同核酸组分的不同LNP中。

[0287] 实施方案187是如实施方案183所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于6种各自包含不同核酸组分的不同LNP中。

[0288] 实施方案188是如实施方案183所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于7种各自包含不同核酸组分的不同LNP中。

[0289] 实施方案189是如实施方案1-167中任一项所述的方法或组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA和所述至少一种与所述第二基因组编辑器同源的gRNA共同地包含至少2种gRNA,并且其中靶向不同基因组基因座的2种gRNA含于同一脂质纳米颗粒(LNP)中。

[0290] 实施方案190是如实施方案1-167和189中任一项所述的方法或组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA和所述至少一种与所述第二基因组编辑器同源的gRNA共同地包含至少3种gRNA,并且其中靶向不同基因组基因座的3种gRNA含于同一脂质纳米颗粒中。

[0291] 实施方案191是如实施方案1-167、189和190中任一项所述的方法或组合物,其中

所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA和所述至少一种与所述第二基因组编辑器同源的gRNA共同地包含至少4种gRNA,并且其中靶向不同基因组基因座的4种gRNA含于同一脂质纳米颗粒中。

[0292] 实施方案192是如实施方案189-191中任一项所述的方法或组合物,其中其他gRNA各自含于不同的LNP中。

[0293] 实施方案193是如实施方案1-167中任一项所述的方法或组合物,其中所述gRNA中的每一者含于不同的LNP中。

[0294] 实施方案194是如实施方案1-167中任一项所述的方法或组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含多于一种靶向不同基因组基因座的gRNA,并且所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器与所述多于一种gRNA中的至少一种含于同一LNP中。

[0295] 实施方案195是如实施方案194所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器和所述gRNA中的一者含于同一LNP中。

[0296] 实施方案196是如实施方案194或195所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器和所述gRNA中的2者含于同一LNP中。

[0297] 实施方案197是如实施方案194-196中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器和所述gRNA中的3者含于同一LNP中。

[0298] 实施方案198是如实施方案194-197中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器和所述gRNA中的4者含于同一LNP中。

[0299] 实施方案199是如实施方案1-167中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器含于与所述至少一种同所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA中的每一者不同的LNP中。

[0300] 实施方案200是如实施方案1-167中任一项所述的方法或组合物,其中所述至少一种与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的gRNA包含多于一种靶向不同基因组基因座的gRNA,并且所述多于一种gRNA中的每一者含于不同的LNP中。

[0301] 实施方案201是如实施方案200所述的方法或组合物,其中包含与所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器同源的所述gRNA中的一者的LNP各自还包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器。

[0302] 实施方案202是如实施方案1-167中任一项所述的方法或组合物,其中所述第二基因组编辑器和所述至少一种与所述第二基因组编辑器同源的gRNA含于同一LNP中。

[0303] 实施方案203是如实施方案202所述的方法或组合物,其中所述第二基因组编辑器与所述gRNA中的一者含于同一LNP中。

[0304] 实施方案204是如实施方案1-167中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),并且所述UGI含于与所述gRNA中的每一者不同的LNP中。

[0305] 实施方案205是如实施方案1-204中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP包含第一组不同的LNP和第二组不同的LNP,以及任选地第三组不同的LNP。

[0306] 实施方案206是如实施方案205所述的方法或组合物,其中所述第一组不同的LNP包含2、3、4或5种LNP,所述第二组不同的LNP包含2、3、4或5种LNP,并且所述第三组不同的

LNP在存在时包含2、3、4或5种LNP。

[0307] 实施方案207是如实施方案205或206所述的方法或组合物,其中所述第一组不同的LNP包含3或4种LNP,所述第二组不同的LNP包含3或4种LNP。

[0308] 实施方案208是如实施方案205-207中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一组不同的LNP、所述第二组不同的LNP和所述第三组不同的LNP(在存在时)依序递送至细胞。

[0309] 实施方案209是如实施方案205-208中任一项所述的方法或组合物,其中所述第二组不同的LNP是在所述第一组不同的LNP递送至细胞后1、2或3天递送至细胞,并且其中所述第三组不同的LNP(在存在时)是在所述第二组不同的LNP递送至细胞后1、2或3天递送至细胞。

[0310] 实施方案210是如实施方案205-209中任一项所述的方法或组合物,其中所述第二组不同的LNP是在所述第一组不同的LNP递送至细胞后1天递送至细胞。

[0311] 实施方案211是如实施方案21-86和104-210中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP的直径为1-250nm、10-200nm、20-150nm、约35-150nm、50-150nm、50-100nm、50-120nm、60-100nm、75-150nm、75-120nm或75-100nm。

[0312] 实施方案212是如实施方案211所述的方法或组合物,其中所述LNP的直径＜100nm。

[0313] 实施方案213是如实施方案21-86和104-211中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP包含可电离脂质。

[0314] 实施方案214是如实施方案213所述的方法或组合物,其中所述可电离脂质包含生物可降解的可电离脂质。

[0315] 实施方案215是如实施方案213或214所述的方法或组合物,其中所述可电离脂质的PK值在约5.1至约7.4的pKa范围内,例如约5.5至约6.6、约5.6至约6.4、约5.8至约6.2、或约5.8至约6.5。

[0316] 实施方案216是如实施方案213-215中任一项所述的方法或组合物,其中所述可电离脂质包含胺脂质。

[0317] 实施方案217是如实施方案216所述的方法或组合物,其中所述胺脂质为脂质A或其缩醛类似物或脂质D。

[0318] 实施方案218是如实施方案21-86和104-217中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP包含辅助脂质。

[0319] 实施方案219是如实施方案21-86和104-218中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP的N/P比为约6。

[0320] 实施方案220是如实施方案21-86和104-219中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP包含胺脂质、辅助脂质和PEG脂质。

[0321] 实施方案221是如实施方案21-86和104-220中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP包含胺脂质、辅助脂质、中性脂质和PEG脂质。

[0322] 实施方案222是如实施方案21-86和104-221中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约50-60mol％胺脂质如脂质A;约8-10mol％中性脂质;和约2.5-4mol％隐形脂质(例如PEG脂质),其中所述脂质组分的其余部分为辅助脂质,并且其中脂质LNP的N/P比为约3-7。

[0323] 实施方案223是如实施方案21-86和104-222中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约25-45mol%胺脂质如脂质A;约10-30mol%中性脂质;约25-65mol%辅助脂质;和约1.5-3.5mol%隐形脂质(例如PEG脂质),并且其中所述LNP的N/P比为约3-7。

[0324] 实施方案224是如实施方案223所述的方法或组合物,其中所述胺脂质的量为所述脂质组分的约29-38mol%;所述脂质组分的约30-43mol%;或所述脂质组分的约25-34mol%;任选地所述脂质组分的约33mol%、约35mol%或所述脂质组分的约38mol%。

[0325] 实施方案225是223或224所述的方法或组合物,其中所述中性脂质的量为所述脂质组分的约11-20mol%,任选地所述脂质组分的约15mol%。

[0326] 实施方案226是如实施方案223-225中任一项所述的方法或组合物,其中所述辅助脂质的量为所述脂质组分的约43-65mol%;或所述脂质组分的约43-55mol%;任选地所述脂质组分的约47.5mol%或所述脂质组分的约49mol%。

[0327] 实施方案227是如实施方案223-226中任一项所述的方法或组合物,其中所述PEG脂质的量为所述脂质组分的约2.0-3.5mol%;所述脂质组分的约2.3-3.5mol%;或所述脂质组分的约2.3-2.7mol%,任选地所述脂质组分的约2.5mol%或所述脂质组分的约2.7m0l%。

[0328] 实施方案228是如实施方案223-237中任一项所述的方法或组合物,其中

[0329] a.所述胺脂质的量为所述脂质组分的约29-44mol%;所述中性脂质的量为所述脂质组分的约11-28mol%;所述辅助脂质的量为所述脂质组分的约28-55mol%;并且所述PEG脂质的量为所述脂质组分的约2.3-3.5mol%

[0330] b.所述胺脂质的量为所述脂质组分的约29-38mol%;所述中性脂质的量为所述脂质组分的约11-20mol%;所述辅助脂质的量为所述脂质组分的约43-55mol%;并且所述PEG脂质的量为所述脂质组分的约2.3-2.7mol%;

[0331] c.所述胺脂质的量为所述脂质组分的约25-34mol%;所述中性脂质的量为所述脂质组分的约10-20mol%;所述辅助脂质的量为所述脂质组分的约45-65mol%;并且所述PEG脂质的量为所述脂质组分的约2.5-3.5mol%;或

[0332] d.所述胺脂质的量为所述脂质组分的约30-43mol%;所述中性脂质的量为所述脂质组分的约10-17mol%;所述辅助脂质的量为所述脂质组分的约43.5-56mol%;并且所述PEG脂质的量为所述脂质组分的约1.5-3mol%。

[0333] 实施方案229是如实施方案21-86和104-228中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约25-50mol%胺脂质,如脂质D;约7-25mol%中性脂质;约39-65mol%辅助脂质;和约0.5-1.8mol%隐形脂质(例如PEG脂质),并且其中所述LNP的N/P比为约3-7。

[0334] 实施方案230是如实施方案229所述的方法或组合物,其中所述胺脂质的量为所述脂质组分的约30-45mol%;或所述脂质组分的约30-40mol%;任选地所述脂质组分的约30mol%、40mol%或50mol%。

[0335] 实施方案231是如实施方案229或230所述的方法或组合物,其中所述中性脂质的量为所述脂质组分的约10-20mol%;或所述脂质组分的约10-15mol%;任选地所述脂质组分的约10mol%或15mol%。

[0336] 实施方案232是如实施方案229-231中任一项所述的方法或组合物,其中所述辅助脂质的量为所述脂质组分的约50-60mol%;所述脂质组分的约39-59mol%;或所述脂质组分的约43.5-59mol%;任选地所述脂质组分的约59mol%;所述脂质组分的约43.5mol%;或所述脂质组分的约39mol%。

[0337] 实施方案233是如实施方案229-232中任一项所述的方法或组合物,其中所述PEG脂质的量为所述脂质组分的约0.9-1.6mol%;或所述脂质组分的约1-1.5mol%;任选地所述脂质组分的约1mol%或所述脂质组分的约1.5mol%。

[0338] 实施方案234是如实施方案229-233中任一项所述的方法或组合物,其中:

[0339] a.所述可电离脂质的量为所述脂质组分的约27-40mol%;所述中性脂质的量为所述脂质组分的约10-20mol%;所述辅助脂质的量为所述脂质组分的约50-60mol%;并且所述PEG脂质的量为所述脂质组分的约0.9-1.6mol%;

[0340] b.所述可电离脂质的量为所述脂质组分的约30-45mol%;所述中性脂质的量为所述脂质组分的约10-15mol%;所述辅助脂质的量为所述脂质组分的约39-59mol%;并且所述PEG脂质的量为所述脂质组分的约1-1.5mol%;

[0341] c.所述可电离脂质的量为所述脂质组分的约30mol%;所述中性脂质的量为所述脂质组分的约10mol%;所述辅助脂质的量为所述脂质组分的约59mol%;并且所述PEG脂质的量为所述脂质组分的约1mol%;

[0342] d.所述可电离脂质的量为所述脂质组分的约40mol%;所述中性脂质的量为所述脂质组分的约15mol%;所述辅助脂质的量为所述脂质组分的约43.5mol%;并且所述PEG脂质的量为所述脂质组分的约1.5mol%;或

[0343] e.所述可电离脂质的量为所述脂质组分的约50mol%;所述中性脂质的量为所述脂质组分的约10mol%;所述辅助脂质的量为所述脂质组分的约39mol%;并且所述PEG脂质的量为所述脂质组分的约1mol%。

[0344] 实施方案235是如实施方案216-234中任一项所述的方法或组合物,其中所述胺脂质为脂质A。

[0345] 实施方案236是如实施方案216-234中任一项所述的方法或组合物,其中所述胺脂质为脂质D。

[0346] 实施方案237是如实施方案221-236中任一项所述的方法或组合物,其中所述中性脂质为DSPC。

[0347] 实施方案238是如实施方案222-237中任一项所述的方法或组合物,其中所述隐形脂质为PEG-二肉豆蔻酰基甘油(PEG-DMG)。

[0348] 实施方案239是如实施方案218-238中任一项所述的方法或组合物,其中所述辅助脂质为胆固醇。

[0349] 实施方案240是如实施方案21-86和104-239中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP在接触所述细胞之前用血清因子预处理,任选地其中所述血清因子为灵长类动物血清因子、任选地人类血清因子。

[0350] 实施方案241是如实施方案21-86和104-240中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP在接触所述细胞之前用人类血清预处理。

[0351] 实施方案242是如实施方案21-86和104-241中任一项所述的方法或组合物,其中

所述LNP在接触所述细胞之前用ApoE预处理,任选地其中所述ApoE为人类ApoE。

[0352] 实施方案243是如实施方案21-86和104-242中任一项所述的方法或组合物,其中所述LNP在接触所述细胞之前用重组ApoE3或ApoE4预处理,任选地其中所述ApoE3或所述ApoE4为人类ApoE3或ApoE4。

[0353] 实施方案244是一种细胞,其中所述细胞在体外用实施方案1-243中任一项所述的方法或组合物处理。

[0354] 实施方案245是一种细胞,其中所述细胞在体内用实施方案1-243中任一项所述的方法或组合物处理。

[0355] 实施方案246是如实施方案244或245所述的细胞,其中所述细胞为人类细胞。

[0356] 实施方案247是如实施方案244-246中任一项所述的细胞,其中所述细胞选自:间质干细胞;造血干细胞(HSC);单核细胞;内皮祖细胞(EPC);神经干细胞(NSC);缘干细胞(LSC);组织特异性原代细胞或由其衍生的细胞(TSC)、诱导型多能干细胞(iPSC);眼干细胞;多能干细胞(PSC);胚胎干细胞(ESC);和用于器官或组织移植的细胞,以及任选地用于ACT疗法中的细胞。

[0357] 实施方案248是如实施方案244-247中任一项所述的细胞,其中所述细胞为免疫细胞。

[0358] 实施方案249是如实施方案248所述的细胞,其中所述免疫细胞选自淋巴细胞(例如T细胞、B细胞、天然杀手细胞("NK细胞",和NKT细胞或iNKT细胞))、单核细胞、巨噬细胞、肥大细胞、树突细胞、颗粒细胞(例如嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞)、原代免疫细胞、CD3+细胞、CD4+细胞、CD8+T细胞、调控性T细胞(Treg)、B细胞和树突细胞(DC))。

[0359] 实施方案250是如实施方案248所述的细胞,其中所述免疫细胞选自外周血单核细胞(PBMC)、淋巴细胞、T细胞,任选地CD4+细胞、CD8+细胞、记忆T细胞、原初T细胞、干细胞记忆T细胞;或B细胞,任选地记忆B细胞、原初B细胞;和原代细胞。

[0360] 实施方案251是如实施方案250所述的细胞,其中所述细胞为T细胞。

[0361] 实施方案252是如实施方案251所述的细胞,其中所述T细胞选自肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)、表达α-βTCR的T细胞、表达γ-δTCR的T细胞、调控性T细胞(Treg)、记忆T细胞和早期干细胞记忆T细胞(Tscm,CD27+/CD45+)。

[0362] 实施方案253是如实施方案244-252中任一项所述的细胞,其中所述细胞在编辑前从人类供体PBMC或leukopak中分离出。

[0363] 实施方案254是如实施方案244-253中任一项所述的细胞,其中所述细胞源自编辑前的祖细胞。

[0364] 实施方案255是一种细胞群体,所述细胞群体包含实施方案244-254中任一项所述的细胞。

[0365] 实施方案256是如实施方案255所述的细胞群体,其中所述群体包含经编辑的T细胞,并且其中所述群体的至少30%、40%、50%、55%、60%、65%的细胞具有记忆表型(CD27+、CD45RA+)。

[0366] 实施方案257是如实施方案255或256所述的细胞群体,其中所述细胞为非活化的免疫细胞。

[0367] 实施方案258是如实施方案255-257中任一项所述的细胞群体,其中所述细胞为活

化的免疫细胞。

[0368] 实施方案259是如实施方案255-258中任一项所述的细胞群体,其中所述细胞为T细胞并且所述细胞在编辑后对重复刺激有反应。

[0369] 实施方案260是如实施方案255-259中任一项所述的细胞群体,其中所述细胞离体培养、扩增或增殖。

[0370] 实施方案261是如实施方案87-260中任一项所述的细胞、细胞群体或组合物,其用于治疗癌症。

[0371] 实施方案262如实施方案87-261中任一项所述的细胞、细胞群体或组合物用于制备用以治疗癌症的药剂的用途。

[0372] 实施方案263是一种工程化细胞,所述工程化细胞包含在至少三个基因组基因座中的至少三种碱基编辑物以及至少一个外源基因。

[0373] 实施方案264是一种组合物,所述组合物包含:

[0374] a.gRNA,其包含选自以下的向导序列:i)SEQ ID NO:251-264;ii)选自SEQ ID NO:251-264的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;iii)与选自SEQ ID NO:251-264的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;iv)包含表5中所列示的基因组坐标的10个邻接核苷酸±10个核苷酸的序列;v)来自(iv)的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;或vi)与选自(v)的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;或

[0375] b.编码(a.)的gRNA的核酸。

[0376] 实施方案265是一种改变AAVS1基因内的DNA序列的方法,所述方法包括向细胞递送:

[0377] a.gRNA,其包含选自以下的向导序列:i)SEQ ID NO:251-264;ii)选自SEQ ID NO:251-264的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;iii)与选自SEQ ID NO:251-264的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;iv)包含表5中所列示的基因组坐标的10个邻接核苷酸±10个核苷酸的序列;v)来自(iv)的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;或vi)与选自(v)的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;或

[0378] b.编码(a.)的gRNA的核酸。

[0379] 实施方案266是一种免疫治疗方法,所述免疫治疗方法包括向受试者施用包含工程化细胞的组合物,

[0380] 其中所述细胞包含AAVS1基因中的基因组修饰,其中遗传修饰包含选自以下的基因组坐标内的插入:chr19:55115695-55115715;ch r19:55115588-55115608;chr1 9:55115616-55115636;chr19:55115623-55115643;chr19:55115637-55115657;chr19:55115691-55115711;chr19:55115755-55115775;chr19:55115823-55115843;chr19:55115834-55115854;chr19:55115835-55115855;chr19:55115836-55115856;chr19:55115850-55115870;chr19:55115951-55115971;和chr19:55115949-55115969;或

[0381] 其中通过向所述细胞中递送以下物质使所述细胞工程化:

[0382] a.gRNA,其包含选自以下的向导序列:i)SEQ ID NO:251-264;ii)选自SEQ ID NO:251-264的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;iii)与选自SEQ ID NO:251-264的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;iv)包含表5中所列示的基因组坐标的10个邻接核苷酸±10个核苷酸的序列;v)来自(iv)的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;或vi)与

选自(v)的序列至少95％、90％或85％同一的向导序列;或

[0383] b.编码(a.)的gRNA的核酸。

[0384] 实施方案267是一种工程化细胞,所述工程化细胞包含AAVS1基因中的遗传修饰,其中所述遗传修饰包含选自以下的基因组坐标内的插入:chr19:55115695-55115715;chr19:55115588-55115608;chr19:55115616-55115636;chr19:55115623-55115643;chr19:55115637-55115657;chr19:55115691-55115711;chr19:55115755-55115775;chr19:55115823-55115843;chr19:55115834-55115854;chr19:55115835-55115855;chr19:55115836-55115856;chr19:55115850-55115870;chr19:55115951-55115971;和chr19:55115949-55115969。

[0385] 实施方案268是如实施方案1、16、17、87和101中任一项所述的方法或组合物,其中所述第一基因组编辑工具、所述第二基因组编辑工具和所述gRNA共同含于以下中:

[0386] (a)

[0387] (i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI);(ii)第二LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含第二gRNA;(iii)第三LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含第三gRNA;和(iv)第四LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含第四gRNA;和

[0388] (b)

[0389] (i)第五LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI);(ii)第六LNP,其包含所述第二基因组编辑器和第一gRNA;(iii)编码外源基因的核酸,所述外源基因用于插入在所述第一gRNA的编辑位点处;(iv)任选地第七LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含第五gRNA;(v)任选地第八LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含第六gRNA;(vi)任选地第九LNP,其包含所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器并且包含第七gRNA。

[0390] I.定义

[0391] 除非另有说明,否则如本文所用的以下术语和短语旨在具有以下含义:

[0392] “多核苷酸”和“核酸”在本文中用于指包含核苷或核苷类似物的多聚体化合物,其具有沿主链连接在一起的含氮杂环碱基或碱基类似物,包括常规RNA、DNA、混合RNA-DNA和作为其类似物的聚合物。核酸“主链”可由多种键联组成,包括糖-磷酸二酯键联、肽-核酸键(“肽核酸”或PNA;PCT第WO 95/32305号)、硫代磷酸酯键联、甲基膦酸酯键联中的一者或多者或其组合。核酸的糖部分可为核糖、脱氧核糖或具有取代(例如2′甲氧基、2′卤化物或2′-O-(2-甲氧基乙基)(2′-O-moe)取代)的类似化合物。含氮碱基可为常规碱基(A、G、C、T、U)、其类似物(例如经修饰尿苷,如5-甲氧基尿苷、假尿苷或N1-甲基假尿苷,或其他尿苷);肌苷;嘌呤或嘧啶的衍生物(例如N^4-甲基脱氧鸟苷、去氮嘌呤或氮杂嘌呤、去氮嘧啶或氮杂嘧啶、在5位或6位具有取代基的嘧啶碱基(例如5-甲基胞嘧啶)、在2位、6位或8位具有取代基的嘌呤碱基、2-氨基-6-甲基氨基嘌呤、O^6-甲基鸟嘌呤、4-硫基-嘧啶、4-氨基-嘧啶、4-二甲基肼-嘧啶和O^4-烷基-嘧啶;美国专利第5,378,825号和PCT第WO 93/13121号)。关于一般论述,参见The Biochemistry of the Nucleic Acids 5-36,Adams等人编辑,第11版,1992)。核酸可包括一个或多个“无碱基”残基,其中主链不包括聚合物位置的含氮碱基(美国专利第5,585,481号)。核酸可仅包含常规RNA或DNA糖、碱基和键联,或者可包括常规组分和取代

二者(例如具有2′甲氧基键联的常规碱基,或含有常规碱基和一种或多种碱基类似物的聚合物)。核酸包括“锁核酸”(LNA),其为一种含有一个或多个LNA核苷酸单体的类似物,二环呋喃糖单元锁定于模拟RNA的糖构象中,其增强对互补RNA和DNA序列的杂交亲和力(Vester和Wengel,2004,Biochemistry43(42):13233-41)。核酸包括“解锁核酸”,其使得能够调节热力学稳定性并且也提供核酸酶稳定性。RNA和DNA具有不同的糖部分,并且可因RNA中存在尿嘧啶或其类似物并且DNA中存在胸腺嘧啶或其类似物而不同。

[0393] 如本文所用的“多肽”是指包含氨基酸残基的多聚体化合物,其可采用三维构象。多肽包括(但不限于)酶、酶前体蛋白、调控性蛋白质、结构蛋白质、受体、核酸结合蛋白、抗体等。多肽可(但不一定)包含翻译后修饰、非天然氨基酸、辅基等。

[0394] 如本文所用,“核糖核蛋白”(RNP)或“RNP复合物”是指向导RNA连同RNA引导的DNA结合剂,如Cas核酸酶,例如Cas裂解酶、Cas切口酶或dCas DNA结合剂(例如Cas9)。在一些实施方案中,向导RNA将RNA引导的DNA结合剂(如Cas9)引导至靶序列,并且向导RNA与所述靶序列杂交并且所述剂与所述靶序列结合;在所述剂为裂解酶或切口酶的情形下,结合后可进行裂解或切口。

[0395] 如本文所用,“RNA引导的DNA结合剂”意指具有RNA和DNA结合活性的多肽或多肽复合物,或此种复合物的DNA结合亚基,其中DNA结合活性是序列特异性的,并且取决于PAM的存在和向导RNA的序列。示例性RNA引导的DNA结合剂包括Cas裂解酶/切口酶和其失活形式(“dCas DNA结合剂”)。如本文所用,“Cas核酸酶”也称为“Cas蛋白”,其涵盖Cas裂解酶、Cas切口酶和dCas DNA结合剂。Cas裂解酶/切口酶和dCas DNA结合剂包括III型CRISPR系统的Csm或Cmr复合物、其Cas10、Csm1或Cmr2亚基、I型CRISPR系统的级联复合物、其Cas3亚基和2类Cas核酸酶。如本文所用,“2类Cas核酸酶”是具有RNA引导的DNA结合活性的单链多肽。2类Cas核酸酶包括2类Cas裂解酶/切口酶(例如H840A、D10A或N863A变体),其进一步具有RNA引导的DNA裂解酶或切口酶活性;以及2类dCas DNA结合剂,其中裂解酶/切口酶活性是失活的。2类Cas核酸酶包括例如Cas9、Cpf1、C2c1、C2c2、C2c3、HF Cas9(例如N497A、R661A、Q695A、Q926A变体)、HypaCas9(例如N692A、M694A、Q695A、H698A变体)、eSPCas9(1.0)(例如K810A、K1003A、R1060A变体)和eSPCas9(1.1)(例如K848A、K1003A、R1060A变体)蛋白质和其修饰形式。Cpf1蛋白(Zetsche等人,Cell,163:1-13(2015))与Cas9同源,并且含有RuvC样核酸酶结构域。Zetsche的Cpf1序列通过引用整体并入。例如,参见Zetsche,表S1和表S3。例如,参见Makarova等人,Nat Rev Microbiol,13(11):722-36(2015);Shmakov等人,Molecular Cell,60:385-397(2015)。

[0396] 如本文所用,术语“基因组编辑器”或“编辑器”是指包含能够在核酸序列(例如DNA或RNA)内进行修饰的多肽的物质。在一些实施方案中,所述编辑器为裂解酶,如Cas9裂解酶。在一些实施方案中,所述编辑器能够使核酸内的碱基脱氨基,并且可将其称为碱基编辑器。在一些实施方案中,所述编辑器能够使DNA分子内的碱基脱氨基。在一些实施方案中,所述编辑器能够使DNA中的胞嘧啶(C)脱氨基。在一些实施方案中,所述编辑器是融合蛋白,其包含与胞苷脱氨酶结构域融合的RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述编辑器是RNA引导的切口酶与胞苷脱氨酶结构域的组合。在一些实施方案中,所述编辑器是融合蛋白,其包含与APOBEC3A脱氨酶(A3A)融合的RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述编辑器包含与APOBEC3A脱氨酶(A3A)融合的Cas9切口酶。在一些实施方案中,所述编辑器是融合蛋

白,其包含与胞苷脱氨酶结构域融合的酶无活性RNA引导的DNA结合蛋白。在一些实施方案中,所述编辑器是与DNA聚合酶融合的切口酶。

[0397] 如本文所用,术语“基因组编辑工具”是指包含基因组编辑器和至少一种与所述基因组编辑器的核酸酶或切口酶组分同源的向导RNA的物质。

[0398] 基因组编辑器例如可包含C至T碱基编辑器,并且可或可不包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI)。基因组编辑器例如可包含胞苷脱氨酶、RNA引导的切口酶和UGI,其中所述胞苷脱氨酶、所述RNA引导的切口酶和所述UGI包含在单一多肽中,其中所述胞苷脱氨酶、所述RNA引导的切口酶和所述UGI包含在不同多肽中,或者其中所述脱氨酶与所述RNA引导的切口酶包含在单一多肽中,并且所述UGI包含在不同多肽中。在一些实施方案中,所述脱氨酶包含胞苷脱氨酶。

[0399] 如本文所用,术语“正交”是指任何两个基因组编辑器(例如碱基编辑器、核酸酶、切口酶或裂解酶),其中每一者能够经由其同源向导RNA识别其自身靶标,但与同另一基因组编辑器同源的向导RNA不相容,例如每一者不能经由与另一基因组编辑器同源的向导RNA识别另一基因组编辑器的靶标。例如,脑膜炎奈瑟菌Cas9(NmeCas9)切口酶可能能够经由与NmeCas9切口酶同源的向导RNA识别基因组基因座,并且酿脓链球菌Cas9(SpyCas9)裂解酶可能能够经由与SpyCas9裂解酶同源的向导RNA识别另一基因组基因座。在此实例中,NmeCas9切口酶与SpyCas9裂解酶彼此正交。基因组编辑器或基因组编辑组件可经工程化以正交。尽管在此实例中,NmeCas9切口酶与SpyCas9裂解酶源自不同生物体,但两个基因组编辑器不需要源自不同生物体以彼此正交。

[0400] 如本文所用,“胞苷脱氨酶”意指能够具有胞苷脱氨酶活性的多肽或多肽复合物,其催化胞苷或脱氧胞苷的水解脱氨基作用,通常产生尿苷或脱氧尿苷。胞苷脱氨酶涵盖胞苷脱氨酶超家族中的酶,并且特定而言,APOBEC家族的酶(APOBEC1、APOBEC2、APOBEC4和APOBEC3亚组的酶)、活化诱导的胞苷脱氨酶(AID或AICDA)和CMP脱氨酶(例如,参见Conticello等人,Mol.Biol.Evol.22:367-77,2005;Conticello,Genome Biol.9:229,2008;Muramatsu等人,J.Biol.Chem.274:18470-6,1999);Carrington等人,Cells 9:1690(2020))。在一些实施方案中,涵盖任何已知的胞苷脱氨酶或APOBEC蛋白的变体。变体包括具有因一个或若干个突变(即取代、缺失、插入,例如一个或若干个单点取代)而与野生型蛋白质不同的序列的蛋白质。例如,可使用缩短序列,例如通过缺失N末端、C末端或内部氨基酸,优选地缺失序列C末端的一至四个氨基酸。如本文所用,术语“变体”是指与参考序列同源的等位基因变体、剪接变体以及天然或人工突变体。变体具有“功能性”,原因在于其显示出DNA编辑的催化活性。

[0401] 如本文所用,术语“APOBEC3A”是指胞苷脱氨酶,例如由人类A3A基因表达的蛋白质。APOBEC3A可具有催化性DNA编辑活性。APOBEC3A的氨基酸序列已进行阐述(UniPROT登录ID:p31941),并且作为SEQ ID NO:22包括在本文中。在一些实施方案中,APOBEC3A蛋白是人类APOBEC3A蛋白或野生型蛋白质。变体包括具有因一个或若干个突变(即取代、缺失、插入,例如一个或若干个单点取代)而与野生型APOBEC3A蛋白不同的序列的蛋白质。例如,可使用缩短的APOBEC3A序列,例如通过缺失N末端、C末端或内部氨基酸,优选地缺失序列C末端的一至四个氨基酸。如本文所用,术语“变体”是指与APOBEC3A参考序列同源的等位基因变体、剪接变体以及天然或人工突变体。变体具有“功能性”,原因在于其显示出DNA编辑的催化活

性。在一些实施方案中,APOBEC3A(例如人类APOBEC3A)具有57位野生型氨基酸(如野生型序列中所编号)。在一些实施方案中,APOBEC3A(例如人类APOBEC3A)在57位氨基酸处具有天冬酰胺(如野生型序列中所编号)。

[0402] 如本文所用,“切口酶”是在双链DNA中产生单链断裂(也称为“切口”)(即切割DNA双螺旋的一条链,但不切割另一条链)的酶。如本文所用,“RNA引导的切口酶”意指具有DNA切口酶活性的多肽或多肽复合物,其中DNA切口酶活性是序列特异性的并且取决于RNA的序列。示例性RNA引导的切口酶包括Cas切口酶。Cas切口酶包括(但不限于)III型CRISPR系统的Csm或Cmr复合物的切口酶形式、其Cas10、Csm1或Cmr2亚基、I型CRISPR系统的级联复合物、其Cas3亚基和2类Cas核酸酶。2类Cas切口酶包括HNH或RuvC催化结构域失活的多肽,例如Cas9(例如SpyCas9的H840A、D10A或N863A变体或NmeCas9的D16A变体)。脑膜炎奈瑟菌的HNH或HNH样核酸酶结构域或RuvC或RuvC样结构域中的示例性氨基酸取代包括Nme2Cas9D16A(HNH切口酶)和Nme2Cas9H588A(RuvC切口酶)。2类Cas切口酶包括例如Cas9(例如SpyCas9的H840A、D10A或N863A变体)、Cpf1、C2c1、C2c2、C2c3、HF Cas9(例如N497A、R661A、Q695A、Q926A变体)、HypaCas9(例如N692A、M694A、Q695A、H698A变体)、eSPCas9(1.0)(例如K810A、K1003A、R1060A变体)和eSPCas9(1.1)(例如K848A、K1003A、R1060A变体)蛋白质和其修饰形式。Cpf1蛋白(Zetsche等人,Cell,163:1-13(2015))与Cas9同源,并且含有RuvC样蛋白质结构域。Zetsche的Cpf1序列通过引用整体并入。例如,参见Zetsche,表S1和表S3。“Cas9”涵盖酿脓链球菌(Spy)Cas9、本文所列示的Cas9变体和其等效形式。例如,参见Makarova等人,Nat Rev Microbiol,13(11):722-36(2015);Shmakov等人,Molecular Cell,60:385-397(2015)。

[0403] 如本文所用,术语“融合蛋白”是指杂合多肽,其包含来自至少两种不同蛋白质或来源的多肽。一种多肽可位于融合蛋白的氨基末端(N末端)部分或位于羧基末端(C末端)蛋白质,由此分别形成“氨基末端融合蛋白”或“羧基末端融合蛋白”。本文所提供的任何蛋白质都可通过本领域中已知的任何方法来产生。例如,本文所提供的蛋白质可经由重组蛋白质表达和纯化产生,其尤其适于包含肽接头的融合蛋白。重组蛋白质的表达和纯化方法是众所周知的,并且包括Green和Sambrook,Molecular Cloning:A Laboratory Manual(第4版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.(2012))中所阐述的那些方法,所述文献的全部内容通过引用并入本文。

[0404] 如本文所用,术语“接头”是指连接两个毗邻分子或部分的化学基团或分子。通常,接头定位在两个基团、分子或其他部分之间,或位于其侧翼,并且经由共价键彼此连结。在一些实施方案中,接头为一个氨基酸或多个氨基酸(例如肽或蛋白质),例如16-氨基酸残基“XTEN”接头或其变体(例如,参见实施例;和Schellenberger等人,Arecombinant polypeptide extends the in vivo half-life of peptides and proteins in a tunable manner.Nat.Biotechnol.27,1186-1190(2009))。在一些实施方案中,XTEN接头包含序列SGSETPGTSE SATPES(SEQ ID NO:25)、SGSETPGTSESA(SEQ ID NO:26)或SGSETPGTSE SATPEGGSGGS(SEQ ID NO:27)。在一些实施方案中,接头包含选自SEQ ID NO:25-39和72-133的一个或多个序列。

[0405] 如本文所用,术语“尿嘧啶糖苷酶抑制剂”、“尿嘧啶-DNA糖苷酶抑制剂”或“UGI”是指能够抑制尿嘧啶-DNA糖苷酶(UDG)碱基切除修复酶的蛋白质(例如UniPROT ID:P14739;

SEQ ID NO:15;SEQ ID NO:24)。

[0406] 如本文所用,术语“核定位信号”(NLS)或“核定位序列”是指诱导包含此类序列或连接至此类序列的分子转运至真核细胞的细胞核中的氨基酸序列。核定位信号可形成待转运分子的一部分。在一些实施方案中,NLS可通过共价键、氢键或离子相互作用与分子融合。在一些实施方案中,NLS可经由接头与分子融合。

[0407] 如本文所用,基因的“开放阅读框”或“ORF”是指由一系列密码子组成的序列,所述密码子指定所述基因所编码的蛋白质的氨基酸序列。ORF通常以起始密码子(例如在DNA中为ATG或在RNA中为AUG)开始,并且以终止密码子(例如在DNA中为TAA、TAG或TGA,或在RNA中为UAA、UAG或UGA)结束。

[0408] “向导RNA”、“gRNA”和“向导”在本文中可互换使用,以指crRNA(也称为CRISPR RNA),或crRNA与trRNA的组合(也称为tracrRNA)。crRNA与trRNA可缔合为单一RNA分子(单一向导RNA,sgRNA),或为两个单独的RNA分子(双向导RNA,dgRNA)。“向导RNA”或“gRNA”是指每个类型。trRNA可为天然存在的序列或与天然存在的序列相比具有修饰或变化的trRNA序列。

[0409] 如本文所用,“向导序列”或“向导区”或“靶向序列”或“间隔体”或“间隔体序列”等是指gRNA内与靶序列互补的序列,并且用于将gRNA引导至靶序列以通过RNA引导的切口酶进行结合或修饰(例如裂解)。向导序列的长度可为20个核苷酸,例如在酿脓链球菌(Streptococcuspyogenes)(即Spy Cas9(也称为SpCas9))和相关Cas9同源物/直向同源物的情形下。也可使用较短或较长序列作为向导,例如长度为15、16、17、18、19、21、22、23、24或25个核苷酸。向导序列的长度可为20-25个核苷酸,例如在Nme Cas9的情形下,例如长度为20、21、22、23、24或25个核苷酸。例如,长度为24个核苷酸的向导序列可与Nme Cas9(例如Nme2 Cas9)一起使用。

[0410] 在一些实施方案中,靶序列位于例如基因组基因座中或在染色体上,并且与向导序列互补。在一些实施方案中,向导序列与其相应靶序列之间的互补性或同一性程度可为约75%、80%、85%、90%、95%或100%。在一些实施方案中,向导序列与靶区可为100%互补或同一的。在其他实施方案中,向导序列和靶区可含有至少一个错配。例如,向导序列和靶序列可含有1、2、3或4个错配,其中靶序列的总长度为至少17、18、19、20或更多个碱基对。在一些实施方案中,向导序列和靶区可含有1-4个错配,其中向导序列包含至少17、18、19、20或更多个核苷酸。在一些实施方案中,向导序列和靶区可含有1、2、3或4个错配,其中向导序列包含20个核苷酸。在一些实施方案中,例如当向导序列包含24个邻接核苷酸的序列时,向导序列与其相应靶序列之间的互补性或同一性程度为至少80%、85%、90%或95%。在一些实施方案中,向导序列与靶区可为100%互补或同一的。在其他实施方案中,向导序列和靶区可含有至少一个错配,即一个核苷酸不同一或不互补,这取决于参考序列。例如,向导序列和靶序列可含有1-2个、优选不超过1个错配,其中靶序列的总长度为19、20、21、22、23或24个或更多个核苷酸。在一些实施方案中,向导序列和靶区可含有1-2个错配,其中向导序列包含至少24个或更多个核苷酸。在一些实施方案中,向导序列和靶区可含有1-2个错配,其中向导序列包含24个核苷酸。

[0411] 如本文所用,“靶序列”或“基因组靶序列”是指正链或负链中靶基因组基因座中的核酸序列,其与gRNA的向导序列具有互补性,即与gRNA的向导序列充分互补,以允许向导序

列与靶序列特异性结合。靶序列与向导序列的相互作用引导RNA引导的DNA结合剂结合并潜在地切割或裂解(取决于所述剂的活性)靶序列。靶序列的具体长度以及靶序列与向导序列之间可能的错配数取决于例如由gRNA引导的Cas9核酸酶的属性(identity)。Cas蛋白的靶序列包括基因组DNA的正链和负链二者(即给定序列和所述序列的反向互补序列),原因在于Cas蛋白的核酸底物为双链核酸。因此,在向导序列被称为"与靶序列互补"的情形下,应理解,向导序列可引导RNA引导的DNA结合剂(例如dCas9或受损Cas9)结合至靶序列的反向互补序列。因此,在一些实施方案中,在向导序列结合靶序列的反向互补序列的情形下,向导序列与靶序列(例如不包括PAM的靶序列)的某些核苷酸同一,不同之处在于在向导序列中使用U取代T。

[0412] 如本文所用,如果第一序列与第二序列的比对显示整个第二序列中X%或更多的位置与第一序列匹配,则第一序列被视为"包含与第二序列具有至少X%同一性的序列"。例如,序列AAGA包含与序列AAG具有100%同一性的序列,原因在于由于与第二序列的所有三个位置都匹配,因此比对将得到100%同一性。RNA与DNA之间的差异(通常将尿苷交换为胸苷,或反之亦然)和存在核苷类似物(例如经修饰尿苷)并不在多核苷酸中造成同一性或互补性差异,只要相关核苷酸(例如胸苷、尿苷或经修饰尿苷)具有相同的互补序列即可(例如对于所有胸苷、尿苷或经修饰尿苷都为腺苷;另一个实例是胞嘧啶和5-甲基胞嘧啶,二者都使用鸟苷作为互补序列)。因此,例如,序列5′-AXG(其中X为任何经修饰尿苷,例如假尿苷、N1-甲基假尿苷或5-甲氧基尿苷)被视为与AUG100%同一,原因在于两者都与同一序列(5′-CAU)完全互补。示例性比对算法是本领域中众所周知的Smith-Waterman和Needleman-Wunsch算法。本领域技术人员将理解何种算法和参数设置适用于待比对的给定序列对;对于通常具有类似长度和预期同一性(对于氨基酸而言>50%或对于核苷酸而言>75%)的序列,由EBI在www.ebi.ac.uk网络服务器上提供的具有Needleman-Wunsch算法接口的默认设置的Needleman-Wunsch算法通常是适当的。

[0413] "mRNA"在本文中用于指不为DNA并且包含可翻译成多肽的开放阅读框(即可用作核糖体和氨基酰化tRNA的翻译底物)的多核苷酸。mRNA可包含一种或多种修饰,例如如下文所提供的修饰。一般而言,mRNA不含实质量的胸苷残基(例如0个残基或少于30、20、10、5、4、3或2个胸苷残基;或小于10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%或0.1%的胸苷含量)。mRNA可在其尿苷位置的一些或所有位置处含有经修饰尿苷。

[0414] "经修饰尿苷"在本文中用于指除胸苷外与尿苷具有相同氢键受体并且与尿苷具有一种或多种结构差异的核苷。在一些实施方案中,经修饰尿苷为经取代尿苷,即一个或多个非质子取代基(例如烷氧基,如甲氧基)代替质子的尿苷。在一些实施方案中,经修饰尿苷为假尿苷。在一些实施方案中,经修饰尿苷为被取代的假尿苷,即一个或多个非质子取代基(例如烷基,如甲基)代替质子的假尿苷。在一些实施方案中,经修饰尿苷为经取代尿苷、假尿苷或被取代的假尿苷中的任一者。

[0415] 如本文所用的"尿苷位置"是指多核苷酸中由尿苷或经修饰尿苷占据的位置。因此,例如,"100%的尿苷位置为经修饰尿苷"的多核苷酸在相同序列的常规RNA(其中所有碱基都为标准A、U、C或G碱基)中的每个应为尿苷的位置处含有经修饰尿苷。除非另有指示,否则本公开中或伴随本公开的序列表格或序列表的多核苷酸序列中的U可为尿苷或经修饰尿苷。

[0416] 如本文所用,给定氨基酸的“最小尿苷密码子”是具有最少尿苷的密码子(通常为0或1,苯丙氨酸的密码子除外,其最小尿苷密码子具有2个尿苷)。出于评价尿苷含量的目的,将经修饰尿苷残基视为等效于尿苷。

[0417] 如本文所用,ORF的“尿苷二核苷酸(UU)含量”可在绝对意义上表示为ORF中的所列举UU二核苷酸,或以比率计表示为由尿苷二核苷酸的尿苷所占据位置的百分比(例如,AUUAU具有40%的尿苷二核苷酸含量,原因在于5个位置中的2个由尿苷二核苷酸的尿苷占据)。出于评价尿苷二核苷酸含量的目的,将经修饰尿苷残基视为等效于尿苷。

[0418] 如本文所用,给定氨基酸的“最小腺嘌呤密码子”是具有最少腺嘌呤的密码子(通常为0或1,赖氨酸和天冬酰胺的密码子除外,其最小腺嘌呤密码子具有2个腺嘌呤)。出于评价腺嘌呤含量的目的,将经修饰的腺嘌呤残基视为等效于腺嘌呤。

[0419] 如本文所用,ORF的“腺嘌呤二核苷酸含量”可在绝对意义上表示为ORF中的所列举AA二核苷酸,或以比率计表示为由腺嘌呤二核苷酸的腺嘌呤所占据位置的百分比(例如,UAAUA具有40%的腺嘌呤二核苷酸含量,原因在于5个位置中的2个由腺嘌呤二核苷酸的腺嘌呤占据)。出于评价腺嘌呤二核苷酸含量的目的,将经修饰的腺嘌呤残基视为等效于腺嘌呤。

[0420] 如本文所用,术语“基因组基因座”当在由向导RNA靶向的基因组基因座的情形中使用时,包括基因组的一个或多个部分,靶向其影响与所述基因座相关的基因的表达。例如,基因组基因座可包括基因的编码序列、基因的内含子序列、调控序列、基因的转录控制序列、基因的翻译控制序列、剪接位点或基因之间的非编码序列(例如基因间空间)。

[0421] 如本文所用,术语“接触”是指提供至少一种组分,使得所述组分物理接触细胞,包括物理接触细胞表面、胞质液和/或细胞核。使细胞与多肽“接触”涵盖例如使所述细胞与编码所述多肽的核酸接触并且容许所述细胞表达所述多肽。

[0422] 如本文所用,术语“同时”当在使细胞与至少两种基因组编辑工具(例如组合物、多肽、核酸或其组合)接触的情形中使用时,是指所述细胞与所述至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距所述细胞与所述至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过48小时。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过36小时。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过24小时。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过18小时。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过12小时。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过6小时。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过4小时。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过3小时。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过2小时。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过1小时。在一些实

施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过30分钟。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过15分钟。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过10分钟。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触距细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触不超过5分钟。在一些实施方案中,细胞与至少两种基因组编辑工具中的一者的接触和细胞与至少两种基因组编辑工具中的另一者的接触同时进行。在一些实施方案中,所述两种基因组编辑工具在接触细胞之前预混合。

[0423] 如本文所用,“插入/缺失”是指由多个核苷酸组成的插入或缺失突变,所述核苷酸在靶核酸中(例如在双链断裂(DSB)位点处)插入、缺失或插入并缺失。如本文所用,当插入/缺失形成导致插入时,所述插入是在DSB位点的随机插入,并且通常不由模板序列引导或基于模板序列。

[0424] 如本文所用,“敲低”是指特定基因产物(例如蛋白质、mRNA或两者)的表达减少。蛋白质的敲低可通过检测由组织或细胞群体分泌的蛋白质(例如在血清或细胞培养基中)或通过检测来自所关注组织或细胞群体的蛋白质的总细胞量来测量。用于测量mRNA敲低的方法是已知的,并且包括对从所关注组织或细胞群体分离的mRNA进行测序。在一些实施方案中,“敲低”可指特定基因产物的表达的一定损失,例如所转录mRNA的量有所降低或由细胞群体(包括体内群体,例如在组织中所发现的那些群体)表达或分泌的蛋白质的量有所降低。

[0425] 如本文所用,“敲除”是指特定蛋白质在细胞中的表达的损失。敲除可通过检测从组织或细胞群体分泌的蛋白质的量(例如在血清或细胞培养基中)或通过检测组织或细胞群体中的蛋白质的总细胞量来测量。在一些实施方案中,本公开的方法“敲除”一种或多种细胞(例如细胞群体,包括体内群体,例如在组织中所发现的那些群体)中的靶蛋白。在一些实施方案中,敲除并非形成靶蛋白的突变体(例如通过插入/缺失产生),而是细胞中靶蛋白的表达完全丧失,即使表达降低至低于所用测定的检测水平。

[0426] 如本文所用,“包含经编辑细胞的细胞群体”或“包含经编辑细胞的细胞的群体”等是指包含经编辑细胞的细胞群体,然而并非群体中的所有细胞都必须经编辑。包含经编辑细胞的细胞群体也可包括未经编辑的细胞。如通过标准细胞计数方法所测定,包含经编辑细胞的细胞群体内的经编辑细胞的百分比可通过对群体内的在群体中经编辑的细胞进行计数来测定。例如,在一些实施方案中,包含含有单一基因组编辑物的经编辑细胞的细胞群体中将有至少20%、30%、40%、优选至少50%、60%、70%、80%、90%、95%或99%的群体中细胞具有单一编辑物。在一些实施方案中,包含含有至少两种基因组编辑物的经编辑细胞的细胞群体中将有至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%的群体中细胞有至少两种基因组编辑物。

[0427] 如本文所用,“β2M”或“B2M”是指“β-2微球蛋白”的核酸序列或蛋白质序列;人类基因具有登录号NC_000015(范围44711492..44718877),参考GRCh38.p13。B2M蛋白在有核细胞表面上与MHC I类分子缔合为异二聚体,并且为MHC I类蛋白质表达所必需。

[0428] 如本文所用,“CIITA”或“CIITA”或“C2TA”是指“II类主要组织相容性复合物反式

活化蛋白”的核酸序列或蛋白质序列;人类基因具有登录号NC_000016.10(范围10866208..10941562),参考GRCh38.p13。细胞核中的CIITA蛋白作为MHC II类基因转录的正调控蛋白,并且为MHC II类蛋白质表达所必需。

[0429] 如本文所用,“MHC”或“MHC分子”或“MHC蛋白”或“MHC复合物”是指一种或多种主要组织相容性复合物分子,并且包括例如MHC I类和MHC II类分子。在人类中,MHC分子被称为“人类白细胞抗原”复合物或“HLA分子”或“HLA蛋白”。术语“MHC”和“HLA”的使用并不意指具有限制性;如本文所用,术语“MHC”可用于指人类MHC分子,即HLA分子。因此,术语“MHC”和“HLA”在本文中可互换使用。

[0430] 如本文在HLA-A蛋白的情形中所用的术语“HLA-A”是指MHC I类蛋白质分子,其为由重链(由HLA-A基因编码)和轻链(即β-2微球蛋白)组成的异二聚体。如本文在核酸的情形中所用的术语“HLA-A”或“HLA-A基因”是指编码HLA-A蛋白分子的重链的基因。HLA-A基因也称为“HLA I类组织相容性,Aα链”;人类基因具有登录号NC_000006.12(29942532..29945870)。已知HLA-A基因在群体中具有数千种不同的形式(也称为“等位基因”)(并且个体可接受HLA-A基因的两种不同等位基因)。HLA-A等位基因的公共数据库(包括序列信息)可在IPD-IMGT/HLA:https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/获得。术语“HLA-A”和“HLA-A基因”涵盖HLA-A的所有等位基因。

[0431] 如本文在核酸的情形中所用的“HLA-B”是指编码HLA-B蛋白分子的重链的基因。HLA-B也称为“HLAI类组织相容性,Bα链”;人类基因具有登录号NC_000006.12(31353875..31357179)。

[0432] 如本文在核酸的情形中所用的“HLA-C”是指编码HLA-C蛋白分子的重链的基因。HLA-C也称为“HLA I类组织相容性,Cα链”;人类基因具有登录号NC_000006.12(31268749..31272092)。

[0433] 如本文在核酸的情形中所用的“TRBC1”和“TRBC2”是指编码T细胞受体β-链的两个同源基因。“TRBC”或“TRBC1/2”在本文中用于指TRBC1和TRBC2。人类野生型TRBC1序列可在NCBI Gene ID:28639;Ensembl:ENSG00000211751获得。T细胞受体β恒定V_区段翻译产物、BV05S1J2.2、TCRBC1和TCRB是TRBC1的基因同义词。人类野生型TRBC2序列可在NCBI Gene ID:28638;Ensembl:ENSG00000211772获得。T细胞受体β恒定V区段翻译产物和TCRBC2是TRBC2的基因同义词。

[0434] “TRAC”用于指“T细胞受体α链”的核酸序列或氨基酸序列。人类野生型TRAC序列可在NCBI Gene ID:28755;Ensembl:ENSG00000277734获得。T细胞受体α恒定、TCRA、IMD7、TRCA和TRA是TRAC的基因同义词。

[0435] “TRBC”用于指“T细胞受体β-链”的核酸序列或氨基酸序列,例如TRBC1和TRBC2。“TRBC1”和“TRBC2”是指编码T细胞受体β-链的两个同源基因,其为TRBC1或TRBC2基因的基因产物。

[0436] 人类野生型TRBC1序列可在NCBI Gene ID:28639;Ensembl:ENSG00000211751获得。T细胞受体β恒定V区段翻译产物、BV05S1J2.2、TCRBC1和TCRB是TRBC1的基因同义词。

[0437] 人类野生型TRBC2序列可在NCBI Gene ID:28638;Ensembl:ENSG00000211772获得。T细胞受体β恒定V区段翻译产物和TCRBC2是TRBC2的基因同义词。

[0438] 如本文所用,术语“同型合子”是指具有特定基因的两个相同等位基因。

[0439] 如本文所用,“治疗”是指针对受试者的疾病或病症进行任何施用或施加治疗剂,并且包括抑制疾病,阻止其发展,减轻疾病的一种或多种症状,治愈疾病或预防疾病的一种或多种症状、包括症状的复发。

[0440] 如本文所用,“递送”和“施用”可互换使用,并且包括离体和体内施加。

[0441] 如本文所用,共施用意指多种物质在时间上足够接近地一起施用,使得药剂一起发挥作用。共施用涵盖以单一制剂一起施用物质和以在时间上足够接近的分开制剂施用物质,使得药剂一起发挥作用。

[0442] 如本文所用,短语“药学上可接受”意指其可用于制备通常无毒并且并非生物不期望的药物组合物并且在其他方面不为医药应用所不可接受。药学上可接受通常是指非热原性物质。药学上可接受可指无菌物质,尤其用于注射或输注的医药物质。

[0443] 如本文所用,“受试者”是指动物界的任何成员。在一些实施方案中,“受试者”是指人类。在一些实施方案中,“受试者”是指非人类动物。在一些实施方案中,“受试者”是指灵长类动物。在一些实施方案中,受试者包括(但不限于)哺乳动物、鸟类、爬行动物、两栖动物、鱼类、昆虫或蠕虫。在某些实施方案中,非人类受试者为哺乳动物(例如啮齿类动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、绵羊、牛、灵长类动物或猪)。在一些实施方案中,受试者可为转基因动物、遗传工程化动物或克隆。在本发明的某些实施方案中,受试者为成人、青少年或婴儿。在一些实施方案中,使用术语“个体”或“患者”,并且预期与“受试者”可交换使用。

[0444] 如本文所用,细胞上蛋白质的“减少或消除”的表达是指相对于未经修饰的细胞,蛋白质表达的部分或完全丧失。在一些实施方案中,通过流式细胞术测量细胞上蛋白质的表面表达,并且如通过用针对蛋白质的相同抗体染色时荧光信号的减少所证明,相对于未经修饰的细胞具有“减少或消除”的表面表达。通过流式细胞术,相对于未经修饰的细胞具有“减少或消除”的蛋白质表面表达的细胞可称为所述蛋白质的表达呈“阴性”,如通过类似于用同型对照抗体染色的细胞的荧光信号所证明。蛋白质表达的“减少或消除”可通过本领域中的其他已知技术,利用本领域技术人员已知的适当对照来测量。如本文所用,表达“消除”应理解为表达降低至通过所用方法的蛋白质检测水平以下。

[0445] 术语“约”或“大约”意指如由本领域普通技术人员所测定的特定值的可接受误差(其部分地取决于所述值的测量或测定方式),或基本上不影响所阐述主题的性质的变化程度(例如在10%、5%、2%或1%内或在一组值的两个标准偏差内)。因此,除非指示相反情形,否则以下说明书和所附权利要求中所陈述的数值参数为近似值,所述近似值可根据所寻求获得的期望性质而变化。最低限度地,并且并非试图限制权利要求范围的等同内容的准则的应用,每个数值参数应至少根据所报告有效数字的数值并且通过应用普通舍入技术来解释。

[0446] 现将详细参考本发明的某些实施方案,在附图中图解说明所述实施方案的实施例。尽管将结合所阐释的实施方案来阐述本发明,但应理解,所述实施方案并不旨在将本发明限于那些实施方案。与之相反,本发明旨在涵盖如所附权利要求和所包括的实施方案所限定的可包括在本发明内的所有替代方案、修改和等效形式。

[0447] 在详细地阐述本发明教导内容之前,应理解,本公开并不限于具体组合物或工艺步骤,原因在于此类要素可变化。应注意,除非上下文另外明确指示,否则如本说明书和所附权利要求中所用,单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括多个指示物。因此,例如,对“缀

合物”的提及包括多个缀合物,并且对“细胞”的提及包括多个细胞,等等。

[0448] 数值范围包括限定所述范围的数值。所测量和可测量值应理解为是近似值,其考虑到有效数字和与测量相关的误差。同样,“包含(co mprise、comprises、comprising)”、“含有(contain、contains、containin g)”、“包括(include、includes和including)”的使用并不旨在具有限制性。应理解,前述一般说明和详细说明二者都仅为示例性和解释性的,而并不限制教导内容。

[0449] 除非在本说明书中明确注明,否则也将本说明书中列举“包含”各种组分的实施方案考虑为“由所列举组分组成”或“基本上由所列举组分组成”;也将本说明书中列举“由各种组分组成”的实施方案考虑为“包含所列举组分”或“基本上由所列举组分组成”;并且也将本说明书中列举“基本上由各种组分组成”的实施方案考虑为“由所列举组分组成”或“包含所列举组分”(这种可互换性并不适用于这些术语在权利要求中的使用)。

[0450] 除非上下文另外明确指示,否则术语“或”是以包括性含义使用,即等同于“和/或”。

[0451] 本文所用的章节标题仅用于组织目的,而不应解释为以任何方式限制期望主题。倘若通过引用并入的任何材料与本说明书中所定义的任何术语或本说明书的任何其他表达内容冲突,则以本说明书为准。尽管本发明教导内容结合各个实施方案进行阐述,但并不旨在将本发明教导内容限于此类实施方案。与之相反,如本领域技术人员将了解,本发明教导内容涵盖各种替代方案、修改和等效形式。

[0452] II.第一基因组编辑工具

[0453] 在一些实施方案中,第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第一基因组编辑器同源的向导RNA(gRNA)。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA)。

[0454] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器是作为至少一种多肽或至少一种mRNA递送至细胞。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含至少一种多肽或至少一种mRNA。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含裂解酶、切口酶、无催化活性的核酸酶、碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,或包含DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白。

[0455] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含Cas核酸酶。在一些实施方案中,所述Cas核酸酶为Cas9。在一些实施方案中,所述Cas9为酿脓链球菌Cas9(SpyCas9)、金黄色葡萄球菌Cas9(SauCas9)、白喉棒状杆菌Cas9(CdiCas9)、嗜热链球菌Cas9(St1Cas9)、解纤维素乙酸弧菌Cas9(AceCas9)、空肠弯曲杆菌Cas9(CjeCas9)、沼泽红假单胞菌Cas9(RpaCas9)、深红红螺菌Cas9(RruCas9)、内氏放线菌Cas9(AnaCas9)、新凶手弗朗西斯氏菌Cas9(FnoCas9)或脑膜炎奈瑟菌(NmeCas9)。在一些实施方案中,所述Cas9为Nme1Cas9、Nme2Cas9、Nme3Cas9或SpyCas9。在一些实施方案中,所述Cas核酸酶为2类Cas核酸酶。在一些实施方案中,所述Cas核酸酶为Cas12。在一些实施方案中,所述Cas12为毛螺科菌(Lachnospiraceae bacterium)Cas12a(LbCas12a)或者所述Cas12为氨基酸球菌属(Acidaminococcus sp.)Cas12a(AsCas12a)。在一些实施方案中,所述Cas核酸酶为惰性真杆菌(Eubacterium siraeum)Cas13d(EsCas13d)。

[0456] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含胞苷脱氨酶(例如A3A)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含胞苷脱氨酶(包括本文所公开的胞苷脱氨酶中的任一者,例如A3A),和RNA引导的切口酶(包括本文所公开的RNA引导的切口酶中的任一者)。在一些实施方案中,所述碱基编辑器为C至T碱基编辑器,任选地包含胞苷脱氨酶,或为A至G碱基编辑器,任选地包含腺苷脱氨酶。

[0457] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具可与本文所公开的任何第二基因组编辑工具组合。

[0458] A.UGI

[0459] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),并且所述UGI与所述碱基编辑器包含在单一多肽中。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含UGI,并且所述UGI与所述碱基编辑器包含在不同多肽中。在一些实施方案中,所述碱基编辑器包含胞苷脱氨酶和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述胞苷脱氨酶、所述RNA引导的切口酶和所述UGI包含在单一多肽中。在一些实施方案中,所述胞苷脱氨酶、所述RNA引导的切口酶和所述UGI包含在不同多肽中。在一些实施方案中,所述胞苷脱氨酶与所述RNA引导的切口酶包含在单一多肽中,并且其中所述UGI包含在不同多肽中。

[0460] 不受任何理论束缚,提供UGI以及包含脱氨酶的多肽可通过抑制细胞DNA修复机制(例如UDG和下游修复效应子)而有助于本文所阐述的方法,所述细胞DNA修复机制将DNA中的尿嘧啶识别为一种DNA损害形式或者以其他方式切除或修饰尿嘧啶和/或周围核苷酸。应理解,使用UGI可增加能够使C残基脱氨基的酶的编辑效率。

[0461] 本文提供了适宜UGI蛋白质和核苷酸序列,并且本领域技术人员已知其他适宜UGI序列,并且包括例如以下文献中所公布的那些序列:Wang等人,Uracil-DNA glycosylase inhibitor gene of bacteriophage PBS2 encodes a binding protein specific for uracil-DNA glycosylase.J.Biol.Chem.264:1163-1171(1989);Lundquist等人,Site-directed mutagenesis and characterization of uracil-DNA glycosylase inhibitor protein.Role of specific carboxylic amino acids in comp lex formation with Escherichia coli uracil-DNA glycosylase.J.Biol.Chem.272:21408-21419(1997);Ravishankar等人,X-ray analysis of a complex of Escherichia coli uracil DNA glycosylase(EcUDG)with a proteinaceous inhibitor.The structure elucidation of a prokaryotic UDG.Nucleic Acids Res.26:4880-4887(1998);和Putnam等人,Protein mimicry of DNA from crystal structures of the uracil-DNA glycosylase inhibitor protein and its complex with Escherichia coliuracil-DNA glycosylase.J.Mol.Biol.287:331-346(1999),所述文献各自的全部内容通过引用并入本文。应了解,能够抑制尿嘧啶-DNA糖苷酶碱基切除修复酶的任何蛋白质都在本公开的范围内。另外,阻断或抑制碱基切除修复的任何蛋白质也在本公开的范围内。在一些实施方案中,尿嘧啶糖苷酶抑制剂是结合尿嘧啶的蛋白质。在一些实施方案中,尿嘧啶糖苷酶抑制剂是结合DNA中的尿嘧啶的蛋白质。在一些实施方案中,尿嘧啶糖苷酶抑制剂是单链结合蛋白。在一些实施方案中,尿嘧啶糖苷酶抑制剂是无催化活性的尿嘧啶DNA-糖苷酶蛋白。在一些实施方案中,尿嘧啶糖苷酶抑制剂是不从DNA中切除尿嘧啶的无催化活性的尿嘧啶DNA-糖苷酶蛋白。在一些实施方案中,尿嘧啶糖苷酶抑制剂是无催化活性的UDG。

[0462] 在一些实施方案中,本文所公开的尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI)包含与SEQ ID NO:15或24具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,前述同一性水平中的任一者为至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%。在一些实施方案中,所述UGI包含与SEQ ID NO:15或24具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述UGI包含与SEQ ID NO:15或24具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述UGI包含与SEQ ID NO:15或24具有至少98%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述UGI包含与SEQ ID NO:15或24具有至少99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述UGI包含SEQ ID NO:15或24的氨基酸序列。

[0463] B.胞苷脱氨酶

[0464] 胞苷脱氨酶涵盖胞苷脱氨酶超家族中的酶,并且特定而言,APOBEC家族的酶(APOBEC1、APOBEC2、APOBEC4和APOBEC3亚组的酶)、活化诱导的胞苷脱氨酶(AID或AICDA)和CMP脱氨酶(例如,参见Conticello等人,Mol.Biol.Evol.22:367-77,2005;Conticello,Genome Biol.9:229,2008;Muramatsu等人,J.Biol.Chem.274:18470-6,1999);和Carrington等人,Cells 9:1690(2020))。

[0465] 在一些实施方案中,本文所公开的胞苷脱氨酶是APOBEC家族的酶。在一些实施方案中,本文所公开的胞苷脱氨酶是APOBEC1、APOBEC2、APOBEC4和APOBEC3亚组的酶。在一些实施方案中,本文所公开的胞苷脱氨酶是APOBEC3亚组的酶。在一些实施方案中,本文所公开的胞苷脱氨酶是APOBEC3A脱氨酶(A3A)。

[0466] 在一些实施方案中,所述胞苷脱氨酶是包含与SEQ ID NO:22具有至少80%、85%、87%、90%、95%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。

[0467] 1.APOBEC3A脱氨酶

[0468] 在一些实施方案中,本文所公开的APOBEC3A脱氨酶(A3A)是人类A3A。在一些实施方案中,所述A3A是野生型A3A。

[0469] 在一些实施方案中,所述A3A是A3A变体。A3A变体与野生型A3A或其片段共有同源性。在一些实施方案中,A3A变体与野生型A3A具有至少约80%同一性、至少约85%同一性、至少约90%同一性、至少约95%同一性、至少约96%同一性、至少约97%同一性、至少约98%同一性、至少约99%同一性、至少约99.5%同一性或至少约99.9%同一性。在一些实施方案中,与野生型A3A相比,所述A3A变体可具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、21、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50或更多个氨基酸变化。在一些实施方案中,所述A3A变体包含A3A的片段,使得所述片段与野生型A3A的相应片段具有至少约80%同一性、至少约90%同一性、至少约95%同一性、至少约96%同一性、至少约97%同一性、至少约98%同一性、至少约99%同一性、至少约99.5%同一性或至少约99.9%同一性。

[0470] 在一些实施方案中,A3A变体是具有因一个或若干个突变(例如取代、缺失、插入、一个或若干个单点取代)而与野生型A3A蛋白不同的序列的蛋白质。在一些实施方案中,可使用缩短的A3A序列,例如通过缺失N末端、C末端或内部氨基酸。在一些实施方案中,使用缩短的A3A序列,其中在序列C末端的一至四个氨基酸缺失。在一些实施方案中,APOBEC3A(例如人类APOBEC3A)具有57位野生型氨基酸(如野生型序列中所编号)。在一些实施方案中,APOBEC3A(例如人类APOBEC3A)在57位氨基酸处具有天冬酰胺(如野生型序列中所编号)。

[0471] 在一些实施方案中,所述野生型A3A是人类A3A(UniPROT登录ID:p319411,SEQ ID NO:22)。

[0472] 在一些实施方案中,本文所公开的A3A包含与SEQ ID NO:22具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,同一性水平为至少85%、至少87%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%。在一些实施方案中,所述A3A包含与SEQ ID NO:22具有至少87%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述A3A包含与SEQ ID NO:22具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述A3A包含与SEQ ID NO:22具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述A3A包含与SEQ ID NO:22具有至少98%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述A3A包含与A3A SEQ ID NO:22具有至少99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述A3A包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

[0473] C.接头

[0474] 在一些实施方案中,本文所阐述的第一基因组编辑器或碱基编辑器还包含连结脱氨酶与RNA引导的切口酶的接头。在一些实施方案中,所述接头为有机分子、聚合物或化学部分。在一些实施方案中,所述接头为肽接头。在一些实施方案中,编码包含脱氨酶和RNA引导的切口酶的多肽的核酸还包含编码肽接头的序列。提供了编码脱氨酶-接头-RNA引导的切口酶融合蛋白的mRNA。

[0475] 在一些实施方案中,所述肽接头是具有至少1、至少2、至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少40、至少50或更多个氨基酸的任何氨基酸区段。

[0476] 在一些实施方案中,所述肽接头是16残基“XTEN”接头或其变体(例如,参见Schellenberger等人,A recombinant polypeptide extends the in viVo half-life of peptides and proteins in a tunable manner.Nat.Biotechnol.27,1186-1190(2009))。在一些实施方案中,所述XTEN接头包含以下中的任一者的序列:SGSETPGTSESATPES(SEQ ID NO:25)、SGSETPGTSESA(SEQ ID NO:26)或SGSETPGTSESATPEGGSGGS(SEQ ID NO:27)。在一些实施方案中,所述XTEN接头由序列SGSETPGTSESATPES(SEQ ID NO:25)、SGSETPGTSESA(SEQ ID NO:26)或SGSETPGTSESATPEGGSGGS(SEQ ID NO:27)组成。

[0477] 在一些实施方案中,所述肽接头包含$(GGGGS)_n$(例如SEQ ID NO:73、77、82、101)、$(G)_n$、$(EAAAK)_n$(例如SEQ ID NO:74、80、128)、$(GGS)_n$、SGSETPGTSESATPES(SEQ ID NO:25)基序(例如,参见Guilinger J P,Thompson D B,Liu D R.Fusion of catalytically inactive Cas9 to FokI nuclease improves the specificity of genome modification.Nat.Biotechnol.2014;32(6):577-82;全部内容通过引用并入本文)或(XP)n基序(SEQ ID NO:407),或这些序列中任一者的组合,其中n独立地为介于1与30之间的整数。参见WO2015089406,例如段落[0012],其全部内容通过引用并入本文。

[0478] 在一些实施方案中,所述肽接头包含选自SEQ ID NO:25-39和72-133的一个或多个序列。在一些实施方案中,所述肽接头包含选自以下的一个或多个序列:SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132和SEQ ID NO:133。在一些实施方案中,所述肽接头包含SEQ ID NO:129的序列。

[0479] D.RNA引导的切口酶

[0480] 在一些实施方案中,本文所公开的RNA引导的切口酶是Cas切口酶。在一些实施方

案中,RNA引导的切口酶来自特定Cas核酸酶,其中其催化结构域失活。在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶是2类Cas切口酶,如Cas9切口酶或Cpf1切口酶。在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶是酿脓链球菌Cas9切口酶。在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶是脑膜炎双球菌(Neisseriameningitidis)Cas9切口酶。

[0481] 在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶是经修饰的2类Cas蛋白或源自2类Cas蛋白。在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶是经修饰的Cas蛋白或源自Cas蛋白,如2类Cas核酸酶(其可为例如II型、V型或VI型Cas核酸酶)。2类Cas核酸酶包括例如Cas9、Cpf1(Cas12a)、C2c1、C2c2和C2c3蛋白质和其修饰形式。Cas9核酸酶的实例包括酿脓链球菌、金黄色葡萄球菌和其他原核生物的II型CRISPR系统的那些Cas9核酸酶(例如,参见下一段落中的列表),和其经修饰(例如工程化或突变体)形式。例如,参见US2016/0312198 A1;US2016/0312199 A1,其通过引用整体并入。Cas核酸酶的其他实例包括III型CRISPR系统的Csm或Cmr复合物或其Cas10、Csm1或Cmr2亚基;和I型CRISPR系统的级联复合物,或其Cas3亚基。在一些实施方案中,所述Cas核酸酶可来自IIA型、lib型或llc型系统。关于各种CRISPR系统和Cas核酸酶的论述,参见例如Makarova等人,NAT.REV.MICROBIOL.9:467-477(2011);Makarova等人,NAT.REV.MICROBIOL,13:722-36(2015);Shmakov等人,MOLECULARCELL,60:385-397(2015)。

[0482] 本文所阐述的Cas切口酶可为Cas核酸酶的切口酶形式,其来自包括(但不限于)以下物种:酿脓链球菌、嗜热链球菌、链球菌属(Streptococcus sp.)、金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)、无害李斯特氏菌(Listeria innocua)、加氏乳杆菌(Lactobacillus gasseri)、新凶手弗朗西斯氏菌、产琥珀酸沃林氏菌(Wolinella succinogene)、华德萨特菌(Sutterella wadsworthensis)、γ变形菌(Gammaproteobacterium)、脑膜炎双球菌、空肠弯曲菌(Campylobacter jejuni)、多杀巴斯德氏菌(Pasteurella multocida)、产琥珀酸丝状杆菌(Fibrobacter succinogene)、深红红螺菌(Rhodospirillum rubrum)、达松维尔拟诺卡氏菌(Nocardiopsis dassonvillei)、始旋链霉菌(Streptomyces pristinaespiralis)、绿色产色链霉菌(Streptomyces viridochromogene)、绿色产色链霉菌、玫瑰链孢囊菌(Streptosporangium roseum)、玫瑰链孢囊菌、酸热脂环酸芽胞杆菌(Alicyclobacillus acidocaldarius)、假真菌样芽孢杆菌(Bacillus pseudomycoides)、还原硒酸盐芽孢杆菌(Bacillus selenitireducens)、西伯利亚微小杆菌(Exiguobacterium sibiricum)、戴白氏乳杆菌(Lactobacillusdelbrueckii)、唾液乳杆菌(Lactobacillus salivarius)、布氏乳杆菌(Lactobacillus buchneri)、齿垢密螺旋体(Treponema denticola)、海洋微颤菌(Microscilla marina)、伯克霍尔德氏菌(Burkholderiales bacterium)、食萘极单胞菌(Polaromonas naphthalenivorans)、极胞菌属(Polaromonas sp.)、海洋固氮蓝藻(Crocosphaera watsonii)、蓝杆藻属(Cyanothece sp.)、铜绿微囊藻(Microcystis aeruginosa)、聚球藻属(Synechococcus sp.)、阿拉伯糖醋盐杆菌(Acetohalobium arabaticum)、丹氏制胺菌(Ammonifex degensii)、热角军纤维素菌(Caldicelulosiruptor becscii)、矿菌(Candidams Desulforudis)、肉毒梭状芽孢杆菌(Clostridium botulinum)、难养芽胞梭菌(Clostridium difficile)、大芬戈尔德菌(Finegoldia magna)、嗜热盐碱厌氧菌(Natranaerobius thermophilus)、嗜热丙酸降解发酵菌(Pelotomaculum

thermopropionicum)、嗜酸性喜温硫杆菌(Acidithiobacillus caldus)、嗜酸性氧化亚铁硫杆菌(Acidithiobacillus ferrooxidans)、酒色别样着色菌(Allochromatium vinosum)、海杆菌属(Marinobacter sp.)、嗜盐亚消化球菌(Nitrosococcus halophilus)、亚硝化球菌(Nitrosococcus watsoni)、假交替单胞菌(Pseudoalteromonas haloplanktis)、消旋纤线杆菌(Ktedonobacter racemifer)、甲烷盐菌(Methanohalobium evestigatum)、鱼腥藻(Anabaena variabilis)、泡沫节球藻(Nodularia spumigena)、念珠藻属(Nostoc sp.)、极大螺旋藻(Arthrospira maxima)、钝顶螺旋藻(Arthrospira platensis)、螺旋藻属(Arthrospira sp.)、林氏藻属(Lyngbya sp.)、原型微鞘藻(Microcoleus chthonoplastes)、颤藻属(Oscillatoria sp.)、石袍藻(Petrotoga mobilis)、非洲栖热腔菌(Thermosipho africanus)、巴氏链球菌(Streptococcus pasteurianus)、灰色奈瑟球菌(Neisseria cinerea)、红嘴鸥弯曲杆菌(Campylobacter lari)、食清洁剂细小棒菌(Parvibaculum lavamentivorans)、白喉棒状杆菌(Corynebacterium diphtheria)、氨基酸球菌属、毛螺科菌ND2006或藻青菌(Acaryochloris marina)。

[0483] 在一些实施方案中,所述Cas切口酶是来自酿脓链球菌的Cas9核酸酶的切口酶形式。在一些实施方案中,所述Cas切口酶是来自嗜热链球菌的Cas9核酸酶的切口酶形式。在一些实施方案中,所述Cas切口酶是来自脑膜炎双球菌的Cas9核酸酶的切口酶形式。例如,参见WO/2020081568,其阐述Nme2Cas9 D16A切口酶。在一些实施方案中,所述Cas切口酶是来自金黄色葡萄球菌的Cas9核酸酶的切口酶形式。在一些实施方案中,所述Cas切口酶是来自新凶手弗朗西斯氏菌的Cpf1核酸酶的切口酶形式。在一些实施方案中,所述Cas切口酶是来自氨基酸球菌属的Cpf1核酸酶的切口酶形式。在一些实施方案中,所述Cas切口酶是来自毛螺科菌ND2006的Cpf1核酸酶的切口酶形式。在其他实施方案中,所述Cas切口酶是来自以下物种的Cpf1核酸酶的切口酶形式:土伦病弗朗西斯氏菌(Francisella tularensis)、毛螺科菌、解蛋白丁酸弧菌(Butyrivibrio proteoclasticus)、佩莱格里尼菌科细菌(Peregrinibacteria bacterium)、帕库菌科细菌(Parcubacteria bacterium)、史密斯氏菌(Smithella)、氨基酸球菌(Acidaminococcus)、候选白蚁甲烷支原体(Candidatus Methanoplasma termitum)、挑剔真杆菌(Eubacterium eligens)、牛眼莫拉氏菌(Moraxella bovoculi)、稻田钩端螺旋体(Leptospira inadai)、狗口腔卟啉单胞菌(Porphyromonas crevioricanis)、解糖胨普雷沃菌(Prevotella disiens)或猕猴卟啉单胞菌(Porphyromonas macacae)。在某些实施方案中,所述Cas切口酶是来自氨基酸球菌或毛螺菌科(Lachnospiraceae)的Cpf1核酸酶的切口酶形式。如在别处所论述,切口酶可源自(即与其相关)特定Cas核酸酶,原因在于切口酶是核酸酶的一种形式,其中其两个催化结构域中的一者失活,例如通过使核溶解所必需的活性位点残基(例如Spy Cas9中的D10、H840或N863)突变。本领域技术人员将熟悉用于容易地鉴别其他Cas蛋白中的相应残基的技术,例如序列比对和结构比对,其在下文中进行详细论述。

[0484] 在其他实施方案中,所述Cas切口酶可与I型CRISPR/Cas系统有关。在一些实施方案中,所述Cas切口酶可为I型CRISPR/Cas系统的级联复合物的组分。在一些实施方案中,所述Cas切口酶可为Cas3蛋白。在一些实施方案中,所述Cas切口酶可来自III型CRISPR/Cas系统。

[0485] 在一些实施方案中,Cas切口酶是Cas核酸酶或经修饰的Cas核酸酶的切口酶形式,其中核酸内切活性位点(例如)因催化结构域中的一个或多个改变(例如点突变)而失活。关于Cas切口酶和示例性催化结构域改变的论述,参见例如美国专利第8,889,356号。

[0486] 野生型酿脓链球菌Cas9具有两个催化结构域:RuvC和HNH。所述RuvC结构域裂解非靶DNA链,并且所述HNH结构域裂解靶DNA链。在一些实施方案中,Cas核酸酶可包含RuvC或RuvC样核酸酶结构域中的氨基酸取代。RuvC或RuvC样核酸酶结构域中的示例性氨基酸取代包括D10A(基于酿脓链球菌Cas9蛋白)。例如,参见Zetsche等人(2015)Cell 10月22:163(3):759-771。在一些实施方案中,所述Cas核酸酶可包含HNH或HNH样核酸酶结构域中的氨基酸取代。所述HNH或HNH样核酸酶结构域中的示例性氨基酸取代包括E762A、H840A、N863A、H983A和D986A(基于酿脓链球菌Cas9蛋白)。例如,参见Zetsche等人(2015)。所述HNH或HNH样核酸酶结构域或脑膜炎奈瑟菌的RuvC或RuvC样结构域中的示例性氨基酸取代包括Nme2Cas9D16A(HNH切口酶)和Nme2Cas9H588A(RuvC切口酶)。其他示例性氨基酸取代包括D917A、E1006A和D1255A(基于新凶手弗朗西斯氏菌U112Cpf1(FnCpf1)序列(UniProtKB-A0Q7Q2(CPF1_FRATN))。

[0487] 在一些实施方案中,Cas切口酶(如Cas9切口酶)具有失活的RuvC或HNH结构域。在一些实施方案中,使用具有活性降低的RuvC结构域的切口酶。在一些实施方案中,使用具有无活性RuvC结构域的切口酶。在一些实施方案中,使用具有活性降低的HNH结构域的切口酶。在一些实施方案中,使用具有无活性HNH结构域的切口酶。

[0488] 在一些实施方案中,Cas9切口酶具有活性HNH核酸酶结构域并且能够裂解DNA的非靶向链,即由gRNA结合的链,并且具有无活性RuvC核酸酶结构域并且不能裂解DNA的靶向链,即期望通过脱氨酶进行碱基编辑的链。

[0489] 示例性Cas9切口酶氨基酸序列是作为SEQ ID NO:41提供。适于包括在融合蛋白中的示例性Cas9切口酶mRNA编码序列是作为SEQ ID NO:42提供。

[0490] 在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶是本文所阐述的2类Cas切口酶。在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶是本文所阐述的Cas9切口酶。

[0491] 在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶是本文所阐述的酿脓链球菌Cas9切口酶。

[0492] 在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶是本文所阐述的D10A SpyCas9切口酶。在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶包含与SEQ ID NO:41、43或45中的任一者具有至少80%、90%、95%、98%或99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0493] 在一些实施方案中,编码多肽的核酸或第一ORF包含与SEQ ID NO:42、44或46中的任一者的核苷酸序列具有至少80%、90%、95%、98%、99%或100%同一性的核苷酸序列。在一些实施方案中,编码多肽的核酸或第一ORF包含与SEQ ID NO:42、44和46-58中的任一者的核苷酸序列具有至少80%、90%、95%、98%、99%或100%同一性的核苷酸序列。在一些实施方案中,同一性水平为至少90%。在一些实施方案中,同一性水平为至少95%。在一些实施方案中,同一性水平为至少98%。在一些实施方案中,同一性水平为至少99%。在一些实施方案中,同一性水平为至少100%。在一些实施方案中,编码RNA引导的切口酶的序列包含SEQ ID NO:42、44和46中的任一者的核苷酸序列。

[0494] 在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶是本文所阐述的脑膜炎双球菌(Nme)Cas9切口酶。

[0495] 在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶是本文所阐述的D16A NmeCas9切口酶。在一些实施方案中,所述D16A NmeCas9切口酶是D16A Nme2Cas9切口酶。在一些实施方案中,所述D16A Nme2Cas9切口酶包含与SEQ ID NO:149至少80%、90%、95%、98%、99%或100%同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,编码D16ANme2Cas9的序列包含与SEQ ID NO:150-155中的任一者至少80%、90%、95%、98%、99%或100%同一的核苷酸序列。

[0496] E.包含胞苷脱氨酶和RNA引导的切口酶的组合物

[0497] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第一基因组编辑器同源的向导RNA(gRNA)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA)。

[0498] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),并且所述UGI与所述碱基编辑器包含在单一多肽中。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含UGI,并且所述UGI与所述碱基编辑器包含在不同多肽中。在一些实施方案中,所述碱基编辑器包含胞苷脱氨酶和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述胞苷脱氨酶、所述RNA引导的切口酶和所述UGI包含在单一多肽中。在一些实施方案中,所述胞苷脱氨酶、所述RNA引导的切口酶和所述UGI包含在不同多肽中。在一些实施方案中,所述胞苷脱氨酶与所述RNA引导的切口酶包含在单一多肽中,并且其中所述UGI包含在不同多肽中。

[0499] 1.示例性组合物

[0500] 在一些实施方案中,提供了第一基因组编辑器(例如碱基编辑器),其包含脱氨酶(例如胞苷脱氨酶)和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,提供了APOBEC家族的酶和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC2亚组的酶和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC4亚组的酶和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和RNA引导的切口酶。

[0501] 在一些实施方案中,提供了第一基因组编辑器或碱基编辑器,其包含脱氨酶(例如胞苷脱氨酶)和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,提供了APOBEC家族的酶和D10A SpyCas9切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D10ASpyCas9切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC2亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC4亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶。

[0502] 在一些实施方案中,提供了第一基因组编辑器或碱基编辑器,其包含脱氨酶(例如胞苷脱氨酶)和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,提供了APOBEC家族的酶和D16A NmeCas9切口酶。在一些实施方案中,提供了APOBEC家族的酶和D16A Nme2Cas9切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC2亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶。

在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC4亚组的酶和D16ANme2Cas9切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶。

[0503] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器缺少UGI。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器含有一种或多种UGI。

[0504] 在一些实施方案中,所述胞苷脱氨酶与所述RNA引导的切口酶是经由接头连接。在一些实施方案中,所述胞苷脱氨酶与所述RNA引导的切口酶是经由肽接头连接。在一些实施方案中,所述肽接头包含选自SEQ ID NO:25-39和72-133的一个或多个序列。

[0505] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器还包含一个或多个额外异源性功能结构域。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器还包含位于多肽C末端或多肽N末端的一个或多个核定位序列(NLS)(本文所阐述)。

[0506] 在一些实施方案中,提供了第一基因组编辑器或碱基编辑器,其包含脱氨酶(例如胞苷脱氨酶)和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,提供了APOBEC家族的酶和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC2亚组的酶和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC4亚组的酶和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和RNA引导的切口酶。

[0507] 在一些实施方案中,提供了第一基因组编辑器或碱基编辑器,其包含脱氨酶(例如胞苷脱氨酶)和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,APOBEC家族的酶和D10A SpyCas9切口酶,其中所述APOBEC家族的酶与所述D10A SpyCas9切口酶是经由接头融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC家族的酶和D10ASpyCas9切口酶,以及位于融合多肽C末端的核定位序列(NLS)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC家族的酶和D10A SpyCas9切口酶,以及位于融合多肽N末端的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC家族的酶和D1 0ASpyCas9切口酶,其中所述APOBEC家族的酶与所述D10A SpyCas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D10A SpyCas9切口酶的C末端融合的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC家族的酶和D10A SpyCas9切口酶,其中所述APOBEC家族的酶与所述D10A SpyCas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D10A SpyCas9切口酶的C末端融合的NLS。

[0508] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC家族的酶和D16A NmeCas9切口酶,其中所述APOBEC家族的酶与所述D16A NmeCas9切口酶是经由接头融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC家族的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,其中所述APOBEC家族的酶与所述D16A Nme2Cas9切口酶是经由接头融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC家族的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,以及位于融合多肽C末端的核定位序列(NLS)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC家族的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,以及位于融合多肽N末端的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC家族的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,其中所述APOBEC家族的酶与所述D16A Nme2Cas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D16A Nme2Cas9切口酶的C末端融合的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC家族的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,其中所述APOBEC家族的酶与所述D16ANme2Cas9切口酶是经由接头融合,

以及任选地经由接头与所述D16ANme2Cas9切口酶的C末端融合的NLS。

[0509] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶,其中所述APOBEC1亚组的酶与所述D10A SpyCas9切口酶是经由接头融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶,以及位于融合多肽C末端的核定位序列(NLS)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶,以及位于融合多肽N末端的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶,其中所述APOBEC1亚组的酶与所述D10A SPyCas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D10A SpyCas9切口酶的C末端融合的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶,其中所述APOBEC1亚组的酶与所述D10A SpyCas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D10A SpyCas9切口酶的C末端融合的NLS。

[0510] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,其中所述APOBEC1亚组的酶与所述D16A Nme2Cas9切口酶是经由接头融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,其中所述APOBEC1亚组的酶与所述D16A Nme2Cas9切口酶是经由接头融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,以及位于融合多肽C末端的核定位序列(NLS)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,以及位于融合多肽N末端的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,其中所述APOBEC1亚组的酶与所述D16A Nme2Cas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D16A Nme2Cas9切口酶的C末端融合的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC1亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,其中所述APOBEC1亚组的酶与所述D16A Nme2Cas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D16A Nme2Cas9切口酶的C末端融合的NLS。

[0511] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶,其中所述APOBEC3亚组的酶与所述D10A SpyCas9切口酶是经由接头融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶,以及位于融合多肽C末端的核定位序列(NLS)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶,以及位于融合多肽N末端的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D10A SpyCas9切口酶,其中所述APOBEC3亚组的酶与所述D10A SPyCas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D10A SPyCas9切口酶的C末端融合的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D10A SPyCas9切口酶,其中所述APOBEC3亚组的酶与所述D10A SPyCas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D10A SpyCas9切口酶的C末端融合的NLS。

[0512] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,其中所述APOBEC3亚组的酶与所述D16A Nme2Cas9切口酶是经由接头融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D16A Nme2Cas9切

口酶,其中所述APOBEC3亚组的酶与所述D16A Nme2Cas9切口酶是经由接头融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,以及位于融合多肽C末端的核定位序列(NLS)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,以及位于融合多肽N末端的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,其中所述APOBEC3亚组的酶与所述D16A Nme2Cas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D16A Nme2Cas9切口酶的C末端融合的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含APOBEC3亚组的酶和D16A Nme2Cas9切口酶,其中所述APOBEC3亚组的酶与所述D16A Nme2Cas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D16A Nme2Cas9切口酶的C末端融合的NLS。

[0513] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D10A SPyCas9切口酶、包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的接头和包含与SEQ ID NO:22至少85%同一的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D10A SPyCas9切口酶、包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的接头和包含与SEQ ID NO:22至少85%同一的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D10A SPyCas9切口酶、包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的接头和包含与SEQ ID NO:22至少85%同一的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D10ASPyCas9切口酶、包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的接头和包含与SEQ ID NO:22至少85%同一的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D10A SPyCas9切口酶、包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的接头和包含与SEQ ID NO:22至少85%同一的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在任一前述实施方案中,所述D10A SPyCas9切口酶可包含与SEQ ID NO:41、43和45中的任一者至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%同一的氨基酸序列。

[0514] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D16ANme2Cas9切口酶、包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的接头和包含与SEQ ID NO:22至少85%同一的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D16A Nme2Cas9切口酶、包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的接头和包含与SEQ ID NO:22至少85%同一的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D16A Nme2Cas9切口酶、包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的接头和包含与SEQ ID NO:22至少85%同一的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D16A Nme2Cas9切口酶、包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的接头和包含与SEQ ID NO:22至少85%同一的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D16ANme2Cas9切口酶、包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的接头和包含与SEQ ID NO:22至少85%同一的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在任一前述实施方案中,所述D16A Nme2Cas9切口酶可包含与SEQ ID NO:149至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%同一的氨基酸序列。

[0515] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D10A SPyCas9切口酶、包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的接头和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D10A SpyCas9切口酶、包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的接头和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D10A SpyCas9切口酶、包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的接头和

包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D1 0A SpyCas9切口酶、包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的接头和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D10A SpyCas9切口酶、包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的接头和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在任一前述实施方案中,所述D10A SpyCas9包含与SEQ ID NO:41、43和45中的任一者至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%同一的氨基酸序列。

[0516] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D16ANme2Cas9切口酶、包含SEQ ID NO:129的氨基酸序列的接头和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D16A Nme2Cas9切口酶、包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的接头和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D16ANme2Cas9切口酶、包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的接头和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D16A Nme2Cas9切口酶、包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的接头和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含D16ANme2Cas9切口酶、包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的接头和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的胞苷脱氨酶。在任一前述实施方案中,所述D16A Nme2Cas9切口酶包含与SEQ ID NO:149至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%同一的氨基酸序列。

[0517] 所述第一基因组编辑器可以多种方式组织以形成单链。所述NLS可为N末端或C末端的,或为N末端和C末端二者,并且与RNA引导的切口酶相比,胞苷脱氨酶可为N末端或C末端的。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含胞苷脱氨酶、任选的接头、RNA引导的切口酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含RNA引导的切口酶、任选的接头、胞苷脱氨酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、RNA引导的切口酶、任选的接头和胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、RNA引导的切口酶、任选的接头和胞苷脱氨酶,以及任选的NLS。

[0518] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、APOBEC家族的酶、任选的接头、RNA引导的切口酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、RNA引导的切口酶、任选的接头、APOBEC家族的酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、RNA引导的切口酶、任选的接头、APOBEC家族的酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、RNA引导的切口酶、任选的接头、APOBEC家族的酶和任选的NLS。

[0519] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、APOBEC3亚组的酶、任选的接头、RNA引导的切口酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、RNA引导的切口酶、任选的接头、APOBEC3亚组的酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、RNA引导的切口酶、任选的接头、APOBEC3亚组的酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、RNA引导的切口酶、任选的接头、APOBEC3亚组的酶

和任选的NLS。

[0520] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、APOBEC家族的酶、任选的接头、D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶、任选的接头、APOBEC家族的酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、D10A SPyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶、任选的接头、APOBEC家族的酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、D10A SPyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶、任选的接头和APOBEC家族的酶,以及任选的NLS。

[0521] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、APOBEC3亚组的酶、任选的接头、D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶、任选的接头、APOBEC3亚组的酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶、任选的接头、APOBEC3亚组的酶和任选的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶、任选的接头和APOBEC3亚组的酶,以及任选的NLS。

[0522] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含任选的NLS、APOBEC3亚组的酶、任选的接头、D16A Nme2Cas9切口酶。

[0523] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含(i)任选的NLS;(ii)胞苷脱氨酶,其包含与SEQ ID NO:22至少80%同一的氨基酸序列;(iii)接头,其包含选自SEQ ID NO:25-38、39和72-133的一个或多个序列,(iv)D10A SpyCas9切口酶或D16ANme2Cas9切口酶,和(v)任选的NLS。

[0524] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含(i)任选的NLS,(ii)D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶,(iii)接头,其包含选自SEQ ID NO:25-38、39和72-133的一个或多个序列,(iv)胞苷脱氨酶,其包含与SEQ ID NO:22至少80%同一的氨基酸序列,和(v)任选的NLS。

[0525] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含(i)任选的NLS,(ii)D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶,(iii)接头,其包含选自SEQ ID NO:25-38、39和72-133的一个或多个序列,(iv)胞苷脱氨酶,其包含与SEQ ID NO:22至少80%同一的氨基酸序列,和(v)任选的NLS。

[0526] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含(i)任选的NLS,(ii)D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶,(iii)接头,其包含选自SEQ ID NO:25-38、39和72-133的一个或多个序列,(iv)胞苷脱氨酶,其包含与SEQ ID NO:22至少80%同一的氨基酸序列,和(v)任选的NLS。

[0527] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含(i)任选的NLS,(ii)胞苷脱氨酶,其包含与SEQ ID NO:22至少80%同一的氨基酸序列;(iii)接头,其包含选自SEQ ID NO:25-38、39和72-133的一个或多个序列,(iv)D10A SpyCas9切口酶或D16ANme2Cas9切口酶,和(v)任选的NLS。

[0528] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含(i)任选的NLS,(ii)D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶,(iii)接头,其包含选自SEQ ID NO:25-38、39和72-133的一个或多个序列,(iv)胞苷脱氨酶,其包含与SEQ ID NO:22至少80%同一的氨基酸序列,和(v)任选的NLS。

[0529] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含(i)任选的NLS,(ii)D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶,(iii)接头,其包含选自SEQ ID NO:25-38、39和72-133的一个或多个序列,(iv)胞苷脱氨酶,其包含与SEQ ID NO:22至少80%同一的氨基酸序列,和(v)任选的NLS。

[0530] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器从N至C末端包含(i)任选的NLS,(ii)D10A SpyCas9切口酶或D16A Nme2Cas9切口酶,(iii)接头,其包含选自SEQ ID NO:25-38、39和72-133的一个或多个序列,和(iv)胞苷脱氨酶,其包含与SEQ ID NO:22至少80%同一的氨基酸序列,和(v)任选的NLS。

[0531] 2.包含APOBEC3A脱氨酶和RNA引导的切口酶的组合物

[0532] 在一些实施方案中,提供了包含第一基因组编辑器的第一基因组编辑工具。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含碱基编辑器。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含野生型A3A和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含A3A变体和RNA引导的切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含A3A和Cas9切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含A3A和D10ASpyCas9切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和D10A SpyCas9切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含A3A变体和D10A SpyCas9切口酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器缺少UGI。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含一种或多种UGI。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含两种UGI。在一些实施方案中,所述A3A与所述RNA引导的切口酶是经由接头连接。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器还包含一个或多个额外异源性功能结构域。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器还包含位于多肽C末端或多肽N末端的核定位序列(NLS)(本文所阐述)。

[0533] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和D10A SpyCas9切口酶,其中所述人类A3A与所述D10A SpyCas9切口酶是经由接头融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和D10A SpyCas9切口酶,以及位于融合多肽C末端的核定位序列(NLS)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和D10A SpyCas9切口酶,以及位于融合多肽N末端的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和D10A SpyCas9切口酶,其中所述人类A3A与所述D10A SpyCas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D10A SpyCas9切口酶的C末端融合的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和D10A SpyCas9切口酶,其中所述人类A3A与所述D10A SpyCas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D10A SpyCas9切口

酶的C末端融合的NLS。

[0534] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和D16A NmeCas9切口酶,其中所述人类A3A与所述D16A NmeCas9切口酶是经由接头融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和D16A NmeCas9切口酶,以及位于融合多肽C末端的核定位序列(NLS)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和D16A NmeCas9切口酶,以及位于融合多肽N末端的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和D16A NmeCas9切口酶,其中所述人类A3A与所述D16A NmeCas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D16A NmeCas9切口酶的C末端融合的NLS。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含人类A3A和D16A NmeCas9切口酶,其中所述人类A3A与所述D16A NmeCas9切口酶是经由接头融合,以及任选地经由接头与所述D16A NmeCas9切口酶的C末端融合的NLS。

[0535] 所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器可以多种方式组织以形成单链。所述NLS可为N末端或C末端的,或为N末端和C末端二者,并且与RNA引导的切口酶相比,所述A3A可为N末端或C末端的。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器从N至C末端包含A3A、任选的接头、RNA引导的切口酶和任选的NLS。在一些第一基因组编辑器或碱基编辑器中,多肽从N至C末端包含RNA引导的切口酶、任选的接头、A3A和任选的NLS。在一些第一基因组编辑器或碱基编辑器中,多肽从N至C末端包含任选的NLS、RNA引导的切口酶、任选的接头和A3A。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器从N至C末端包含任选的NLS、RNA引导的切口酶、任选的接头和A3A,以及任选的NLS。

[0536] 在任一前述实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器可包含与SEQ ID NO:3、6或146具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,前述同一性水平中的任一者为至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%。在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器可包含与SEQ ID NO:3、6或146具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器可包含与SEQ ID NO:3、6或146具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器可包含与SEQ ID NO:3、6或146具有至少98%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器可包含与SEQ ID NO:3、6或146具有至少99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器可包含SEQ ID NO:3、6或146的氨基酸序列。

[0537] 在任一前述实施方案中,编码本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器的核酸或ORF可包含与SEQ ID NO:2、5或147具有至少80%同一性的核酸序列。在一些实施方案中,前述同一性水平中的任一者为至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%。

[0538] 在任一前述实施方案中,编码本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器的核酸或ORF可包含与SEQ ID NO:1或4具有至少80%同一性的核酸序列。在一些实施方案中,前述同一性水平中的任一者为至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%。

[0539] 在任一前述实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器可包含与SEQ

ID NO:9、12、18和21中的任一者具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,前述同一性水平中的任一者为至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%。在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器可包含与SEQ ID NO:9、12、18和21中的任一者具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器可包含与SEQ ID NO:9、12、18和21中的任一者具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器可包含与SEQ ID NO:9、12、18和21中的任一者具有至少98%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器可包含与SEQ ID NO:9、12、18和21中的任一者具有至少99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器可包含SEQ ID NO:9、12、18和21中的任一者的氨基酸序列。

[0540] 在任一前述实施方案中,编码本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器的核酸或ORF可包含与SEQ ID NO:8、11、17和20中的任一者具有至少80%同一性的核酸序列。在一些实施方案中,前述同一性水平中的任一者为至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%。

[0541] 在任一前述实施方案中,编码本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器的核酸或ORF可包含与SEQ ID NO:7、10、16和19中的任一者具有至少80%同一性的核酸序列。在一些实施方案中,前述同一性水平中的任一者为至少85%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%。

[0542] 在任一前述实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器可包含与SEQ ID NO:136、139、142或145具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器可包含SEQ ID NO:136、139、142或145的氨基酸序列。在任一前述实施方案中,编码本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器的核酸或ORF可包含与SEQ ID NO:SEQ ID NO:135、138、141或144具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%同一性的核酸序列。在一些实施方案中,编码本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器的核酸或ORF包含SEQ ID NO:135、138、141或144的核酸序列。在任一前述实施方案中,编码本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器的核酸或ORF可包含与SEQ ID NO:134、137、140或143具有至少80%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%同一性的核酸序列。在任一前述实施方案中,编码本文所公开的第一基因组编辑器或碱基编辑器的核酸或ORF可包含SEQ ID NO:134、137、140或143的核酸序列。

[0543] 在任一前述实施方案中,所述A3A可包含与SEQ ID NO:22具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,同一性水平为至少85%、至少87%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%。在一些实施方案中,所述A3A包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

[0544] 在任一前述实施方案中,所述RNA引导的切口酶可包含与SEQ ID NO:41、43或45中的任一者具有至少80%、90%、95%、98%或99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,同一性水平为至少85%、至少87%、至少90%、至少95%、至少98%、至少99%或100%。在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案

中,所述RNA引导的切口酶包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列。

[0545] 在任一前述实施方案中,所述A3A可包含与SEQ ID NO:22具有至少80%同一性的氨基酸序列,并且所述RNA引导的切口酶可包含与SEQ ID NO:41、43或45中的任一者具有至少80%、90%、95%、98%或99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述A3A包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列,并且所述RNA引导的切口酶包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0546] 在任一前述实施方案中,编码第一基因组编辑器或碱基编辑器的核酸或ORF包含与SEQ ID NO:1至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列。在任一前述实施方案中,编码第一基因组编辑器或碱基编辑器的核酸或ORF包含与SEQ ID NO:147至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列。在任一前述实施方案中,编码第一基因组编辑器或碱基编辑器的核酸或ORF包含与SEQ ID NO:310至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的核苷酸序列。

[0547] III.第二基因组编辑工具

[0548] 在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具包含第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第二基因组编辑器同源的gRNA,其中所述第一基因组编辑器与所述第二基因组编辑器正交。在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交。

[0549] 在一些实施方案中,所述第二基因组编辑器是作为至少一种多肽或至少一种mRNA递送至细胞。在一些实施方案中,所述第二基因组编辑器包含至少一种多肽或至少一种mRNA。在一些实施方案中,所述第二基因组编辑器包含裂解酶、切口酶、无催化活性的核酸酶、碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,或包含DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白。

[0550] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含碱基编辑器、任选地C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含裂解酶。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含C至T碱基编辑器,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含A至G碱基编辑器。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的一者包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)RNA引导的切口酶或裂解酶,并且所述第一基因组编辑器和所述第二基因组编辑器中的另一者包含酿脓链球菌(Spy)RNA引导的切口酶或裂解酶。

[0551] 在一些实施方案中,所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶为Cas核酸酶。在一些实施方案中,所述Cas核酸酶为Cas9。在一些实施方案中,所述Cas9为酿脓链球菌Cas9(SpyCas9)、金黄色葡萄球菌Cas9(SauCas9)、白喉棒状杆菌Cas9(CdiCas9)、嗜热链球菌Cas9(St1Cas9)、解纤维素乙酸弧菌Cas9(AceCas9)、空肠弯曲杆菌Cas9(CjeCas9)、沼泽红假单胞菌Cas9(RpaCas9)、深红红螺菌Cas9(RruCas9)、内氏放线菌Cas9(AnaCas9)、新凶手弗朗西斯氏菌Cas9(FnoCas9)或脑膜炎奈瑟菌(NmeCas9)。在一些实施方案中,所述Cas9为Nme1Cas9、Nme2Cas9、Nme3Cas9或SpyCas9。在一些实施方案中,所述Cas核酸酶为2类Cas核酸酶。在一些实施方案中,所述Cas核酸酶为Cas12。在一些实施方案中,所述Cas12为毛螺

科菌Cas12a(LbCas12a)或者所述Cas12为氨基酸球菌属Cas12a(AsCas12a)。在一些实施方案中,所述Cas核酸酶为惰性真杆菌Cas13d(EsCas13d)。

[0552] 在一些实施方案中,所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶为Cas9裂解酶。在一些实施方案中,所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶为酿脓链球菌Cas9(SpyCas9)裂解酶。在一些实施方案中,所述SpyCas9裂解酶包含与SEQ ID NO:156至少90%同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述SpyCas9裂解酶包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列。

[0553] 在一些实施方案中,所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶为Cas9裂解酶。在一些实施方案中,所述第二基因组编辑器或所述RNA引导的裂解酶为脑膜炎奈瑟菌Cas9(NmeCas9)裂解酶。在一些实施方案中,所述NmeCas9裂解酶包含与SEQ ID NO:157、158-167、191、198、205、212和219中的任一者至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述NmeCas9裂解酶包含SEQ ID NO:157、158-167、191、198、205、212和219中的任一者的氨基酸序列。

[0554] 在一些实施方案中,第二基因组编辑工具、编码RNA引导的裂解酶的核酸、包含第二ORF的第二核酸或第二ORF包含与SEQ ID NO:168、169-178、180、181-190、192-197、199-204、206-211、213-218和220-225中的任一者至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一的多核苷酸序列。在一些实施方案中,第二基因组编辑工具、编码RNA引导的裂解酶的核酸、包含第二ORF的第二核酸或第二ORF包含SEQ ID NO:168、169-178、180、181-190、192-197、199-204、206-211、213-218和220-225中的任一者的多核苷酸序列。

[0555] 在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具包含RNA引导的裂解酶。在一些实施方案中,当与至少一种同裂解酶同源的gRNA一起使用时,所述RNA引导的裂解酶提供由所述至少一种gRNA靶向的基因组基因座的同时敲除和外源基因的敲入。

[0556] 在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具包含含有DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白。在一些实施方案中,当与至少一种同切口酶同源的gRNA一起使用时,包含DNA聚合酶和切口酶的融合蛋白提供外源核酸的靶向敲入。

[0557] 在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具可与本文所公开的任何第一基因组编辑工具组合。在一些实施方案中,包含任何第二ORF的第二核酸可与包含本文所公开的任何第一ORF的任何第一核酸组合。在第一基因组编辑工具和第二基因组编辑工具中使用彼此直向同源的Cas9切口酶和Cas9裂解酶可防止交叉利用。

[0558] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器或碱基编辑器(包含APOBEC家族的脱氨酶(例如胞苷脱氨酶)和D16A NmeCas9切口酶),和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述切口酶同源的gRNA。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含一种或多种UGI。在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具包含酿脓链球菌Cas9(SpyCas9)裂解酶和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述SpyCas9裂解酶同源的gRNA。

[0559] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器或碱基编辑器(包含APOBEC家族的脱氨酶(例如胞苷脱氨酶)和D16A NmeCas9切口酶),和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述切口酶同源的gRNA。在一些实施方案中,所述第一基因

组编辑器或所述碱基编辑器不包含任何UGI。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具还包含至少一种不同于第一基因组编辑器或碱基编辑器的多肽中的UGI。在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具包含酿脓链球菌Cas9(SpyCas9)裂解酶和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述SpyCas9裂解酶同源的gRNA。

[0560] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器或碱基编辑器(包含APOBEC家族的脱氨酶(例如胞苷脱氨酶)和D10A SpyCas9切口酶),和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述切口酶同源的gRNA。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器包含一种或多种UGI。在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具包含NmeCas9裂解酶和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述NmeCas9裂解酶同源的gRNA。

[0561] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器或碱基编辑器(包含APOBEC家族的脱氨酶(例如胞苷脱氨酶)和D10A SpyCas9切口酶),和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述切口酶同源的gRNA。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器不包含任何UGI。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具还包含至少一种不同于第一基因组编辑器或碱基编辑器的多肽中的UGI。在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具包含NmeCas9裂解酶和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述NmeCas9裂解酶同源的gRNA。

[0562] IV.其他特征

[0563] 以下部分提供了第一基因组编辑器、碱基编辑器、第二基因组编辑器和编码其的核酸的其他特征。在本文所陈述的任一实施方案中,所述核酸可为表达构建体,其包含可操作地连接至编码本文所公开的第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器的ORF的启动子。

[0564] A.密码子优化

[0565] 在一些实施方案中,编码第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器的核酸包含含有密码子优化的核酸序列的ORF。在一些实施方案中,所述密码子优化的核酸序列包含最小腺嘌呤密码子和/或最小尿苷密码子。

[0566] 可例如通过在ORF的足够部分中使用最小尿苷密码子来减少给定ORF的尿苷含量或尿苷二核苷酸含量。例如,可通过将氨基酸转化成密码子来将本文所阐述的第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器的氨基酸序列回译成ORF序列,其中一些或所有ORF使用下文所示的示例性最小尿苷密码子。在一些实施方案中,ORF中至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%的密码子是表1中所列示的密码子。

[0567] 表1.示例性最小尿苷密码子

[0568]

	氨基酸	最小尿苷密码子
A	丙氨酸	GCA 或 GCC 或 GCG
G	甘氨酸	GGA 或 GGC 或 GGG
V	缬氨酸	GUC 或 GUA 或 GUG
D	天冬氨酸	GAC
E	谷氨酸	GAA 或 GAG
I	异亮氨酸	AUC 或 AUA
T	苏氨酸	ACA 或 ACC 或 ACG
N	天冬酰胺	AAC
K	赖氨酸	AAG 或 AAA
S	丝氨酸	AGC
R	精氨酸	AGA 或 AGG
L	亮氨酸	CUG 或 CUA 或 CUC
P	脯氨酸	CCG 或 CCA 或 CCC
H	组氨酸	CAC
Q	谷氨酰胺	CAG 或 CAA
F	苯丙氨酸	UUC
Y	酪氨酸	UAC
C	半胱氨酸	UGC

[0569]

W	色氨酸	UGG
M	甲硫氨酸	AUG

[0570] 在一些实施方案中,所述ORF可由一组其中至少约75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%的密码子是表1中所列示的密码子的密码子组成。

[0571] 可例如通过在ORF的足够部分中使用最小腺嘌呤密码子来减少给定ORF的腺嘌呤含量或腺嘌呤二核苷酸含量。例如,可通过将氨基酸转化成密码子来将本文所阐述的第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器的氨基酸序列回译成ORF序列,其中一些或所有ORF使用下文所示的示例性最小腺嘌呤密码子。在一些实施方案中,ORF中至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%的密码子是表2中所列示的密码子。

[0572] 表2.示例性最小腺嘌呤密码子

[0573]

	氨基酸	最小腺嘌呤密码子
A	丙氨酸	GCU 或 GCC 或 GCG
G	甘氨酸	GGU 或 GGC 或 GGG
V	缬氨酸	GUC 或 GUU 或 GUG
D	天冬氨酸	GAC 或 GAU
E	谷氨酸	GAG
I	异亮氨酸	AUC 或 AUU
T	苏氨酸	ACU 或 ACC 或 ACG
N	天冬酰胺	AAC 或 AAU
K	赖氨酸	AAG
S	丝氨酸	UCU 或 UCC 或 UCG
R	精氨酸	CGU 或 CGC 或 CGG
L	亮氨酸	CUG 或 CUC 或 CUU
P	脯氨酸	CCG 或 CCU 或 CCC
H	组氨酸	CAC 或 CAU
Q	谷氨酰胺	CAG
F	苯丙氨酸	UUC 或 UUU
Y	酪氨酸	UAC 或 UAU

[0574]

C	半胱氨酸	UGC 或 UGU
W	色氨酸	UGG
M	甲硫氨酸	AUG

[0575] 在一些实施方案中,所述ORF可由一组其中至少约75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%的密码子是表2中所列示的密码子的密码子组成。

[0576] 在可行程度上,上文针对低腺嘌呤含量所阐述的任一特征可与上文针对低尿苷含量所阐述的任一特征进行组合。尿苷和腺嘌呤二核苷酸也如此。类似地,ORF中的尿苷核苷酸和腺嘌呤二核苷酸的含量可如上文所陈述。类似地,ORF中的尿苷二核苷酸和腺嘌呤核苷酸的含量可如上文所陈述。

[0577] 可例如通过在ORF的足够部分中使用最小尿苷和腺嘌呤密码子来减少给定ORF的尿苷和腺嘌呤核苷酸或二核苷酸含量。例如,可通过将氨基酸转化成密码子来将本文所阐述的多肽、第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶的氨基酸序列回译成ORF序列,其中一些或所有ORF使用下文所示的示例性最小尿苷和腺嘌呤密码子。在一些实施方案中,ORF中至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%的密码子是表3中所列示的密码子。

[0578] 表3.示例性最小尿苷和腺嘌呤密码子

[0579]

	氨基酸	最小尿苷和腺嘌呤密码子
A	丙氨酸	GCC 或 GCG
G	甘氨酸	GGC 或 GGG
V	缬氨酸	GUC 或 GUG
D	天冬氨酸	GAC
E	谷氨酸	GAG
I	异亮氨酸	AUC
T	苏氨酸	ACC 或 ACG
N	天冬酰胺	AAC

[0580]

K	赖氨酸	AAG
S	丝氨酸	AGC 或 UCC 或 UCG
R	精氨酸	CGC 或 CGG
L	亮氨酸	CUG 或 CUC
P	脯氨酸	CCG 或 CCC
H	组氨酸	CAC
Q	谷氨酰胺	CAG
F	苯丙氨酸	UUC
Y	酪氨酸	UAC
C	半胱氨酸	UGC
W	色氨酸	UGG
M	甲硫氨酸	AUG

[0581] 在一些实施方案中,所述ORF可由一组其中至少约75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%的密码子是表3中所列示的密码子的密码子组成。如表3中可见,三个所列示丝氨酸密码子中的每一者含有一个A或一个U。在一些实施方案中,通过使用丝氨酸的AGC密码子来优先进行尿苷最小化。在一些实施方案中,通过使用丝氨酸的UCC或UCG密码子来优先进行腺嘌呤最小化。

[0582] 在一些实施方案中,所述ORF可具有增加哺乳动物(如人类)中的翻译的密码子。在其他实施方案中,ORF为mRNA,并且包含增加哺乳动物(例如人类)的器官(如肝脏)中的翻译的密码子。在其他实施方案中,所述ORF可具有增加哺乳动物(例如人类)的细胞类型(如肝细胞)中的翻译的密码子。哺乳动物、细胞类型、哺乳动物器官、人类、人类器官等中的翻译增加可相对于ORF野生型序列的翻译程度来测定,或相对于其密码子分布匹配衍生ORF的生物体或在氨基酸层面上含有最类似ORF的生物体的密码子分布的ORF来测定。或者,在一些实施方案中,哺乳动物、细胞类型、哺乳动物器官、人类、人类器官等中Cas9序列的翻译增加是在所有其他条件均等同的情形下(包括任何适用点突变、异源结构域等),相对于具有SEQ ID NO:2或5的序列的ORF的翻译来测定。在一些实施方案中,ORF中至少约75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的密码子是对应于哺乳动物(如人类)中的高度

表达tRNA(例如针对每个氨基酸的最高表达tRNA)的密码子。在一些实施方案中,ORF中至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的密码子是对应于哺乳动物器官(如人类器官)中的高度表达tRNA(例如针对每个氨基酸的最高表达tRNA)的密码子。

[0583] 或者,通常可使用对应于生物体(例如人类)中高度表达的tRNA的密码子。

[0584] 用于密码子选择的前述方法中的任一者可与上文所示的最小尿苷或腺嘌呤密码子组合,例如通过以表1、表2或表3的密码子起始,并且接着在多于一种选择可用的情形下,使用对应于通常生物体(例如人类)或所关注器官或细胞类型(例如人类肝脏或人类肝细胞)中的更高程度表达的tRNA的密码子。

[0585] 在一些实施方案中,ORF中至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的密码子是来自表4中所示的密码子集的密码子(例如低U1、低A或低A/U密码子集)。低U1、低G、低A和低A/U集中的密码子使用使所指示核苷酸最小化的密码子,同时也使用在多于一种选择可用的情形下,对应于高度表达的tRNA的密码子。在一些实施方案中,ORF中至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的密码子是来自表4中所示的低U1密码子集的密码子。在一些实施方案中,ORF中至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的密码子是来自表4中所示的低A密码子集的密码子。在一些实施方案中,ORF中至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的密码子是来自表4中所示的低A/U密码子集的密码子。

[0586] 表4.示例性密码子集。

[0587]

氨基酸	低U1	低U2	低A	低A/U
Gly	GGC	GGG	GGC	GGC

[0588]

氨基酸	低U1	低U2	低A	低A/U
Glu	GAG	GAA	GAG	GAG
Asp	GAC	GAC	GAC	GAC
Val	GTG	GTA	GTG	GTG
Ala	GCC	GCG	GCC	GCC
Arg	AGA	CGA	CGG	CGG
Ser	AGC	AGC	TCC	AGC
Lys	AAG	AAA	AAG	AAG
Asn	AAC	AAC	AAC	AAC
Met	ATG	ATG	ATG	ATG
Ile	ATC	ATA	ATC	ATC
Thr	ACC	ACG	ACC	ACC
Trp	TGG	TGG	TGG	TGG
Cys	TGC	TGC	TGC	TGC
Tyr	TAC	TAC	TAC	TAC
Leu	CTG	CTA	CTG	CTG
Phe	TTC	TTC	TTC	TTC
Gln	CAG	CAA	CAG	CAG
His	CAC	CAC	CAC	CAC

[0589] B.异源性功能结构域;核定位信号(NLS)

[0590] 在一些实施方案中,本文所公开的第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器还包含一个或多个其他异源性功能结构域(例如为或包含三元或更高阶融合多肽)。

[0591] 在一些实施方案中,所述异源性功能结构域可有助于将第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器转运至细胞核中。例如,所述异源性功能结构域可为核定位信号(NLS)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器、所述碱基编辑器或所述第二基因组编辑器可与1-10个NLS融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器、所述碱基编辑器或所述第二基因组编辑器可与1-5个NLS融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器、所述碱基编辑器或所述第二基因组编辑器可与一个NLS融合。在使用一个NLS的情形下,所述NLS可在第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器序列的N末端或C末端融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器、所述碱基编辑器或所述第二基因组编辑器可在C末端与至少一个NLS融合。NLS也可插入在多肽、第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶序列内。在其他实施方案中,所述第一基因组编辑器、所述碱基编辑器或所述第二基因组编辑器可与多于一个NLS融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器、所述碱基编辑器或所述第二基因组编辑器可与2、3、4或5个NLS融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器、所述碱基编辑器或所述第二基因组编辑器可与两个NLS融合。在某些情况下,所述两个NLS可相同(例如两个SV40 NLS)或不同。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器、所述碱基编辑器或所述第二基因组编辑器在羧基末端与两个SV40 NLS序列融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器、所述碱基编辑器或所述第二基因组编辑器可与两个NLS融合,一个在N末端并且一个在C末端。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器、所述碱基

编辑器或所述第二基因组编辑器可与3个NLS融合。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器、所述碱基编辑器或所述第二基因组编辑器可不与NLS融合。在一些实施方案中,所述NLS可为单组分序列,例如SV40 NLS、PKKKRKV(SEQ ID NO:40)或PKKKRRV(SEQ ID NO:70)。在一些实施方案中,所述NLS可为双组分序列,例如核质蛋白、KRPAATKKAGQAKKKK(SEQ ID NO:71)的NLS。在一个具体实施方案中,单一PKKKRKV(SEQ ID NO:40)NLS可在第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器的C末端融合。一个或多个接头任选地包括在融合位点处(例如在第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器与NLS之间)。在一些实施方案中,根据任一前述实施方案的一个或多个NLS与一个或多个其他异源性功能结构域(例如下文所阐述的异源性功能结构域中的任一者)组合存在于第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器中。

[0592] 在一些实施方案中,所述胞苷脱氨酶(例如A3A)位于第一基因组编辑器或碱基编辑器中RNA引导的切口酶的N末端。在一些实施方案中,所述RNA引导的切口酶包含核定位信号(NLS)。在一些实施方案中,所述NLS与所述RNA引导的切口酶的C末端融合。在一些实施方案中,所述NLS经由接头与所述RNA引导的切口酶的C末端融合。在一些实施方案中,所述NLS与所述RNA引导的切口酶的N末端融合。在一些实施方案中,所述NLS经由接头(例如SEQ ID NO:39)与所述RNA引导的切口酶的N末端融合。在一些实施方案中,所述NLS包含与SEQ ID NO:40和59-71中的任一者具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列。在一些实施方案中,所述NLS包含SEQ ID NO:40和59-71中的任一者的序列。在一些实施方案中,所述NLS由与SEQ ID NO:40和59-71中的任一者的序列具有至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一性的序列编码。

[0593] 在一些实施方案中,所述异源性功能结构域可能能够改进第一基因组编辑器或碱基编辑器中A3A或RNA引导的切口酶的细胞内半衰期。在一些实施方案中,所述多肽中A3A或RNA引导的切口酶的半衰期可延长。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器中A3A或RNA引导的切口酶的半衰期可缩短。在一些实施方案中,所述异源性功能结构域可能能够增加第一基因组编辑器或碱基编辑器中A3A或RNA引导的切口酶的稳定性。在一些实施方案中,所述异源性功能结构域可能能够降低第一基因组编辑器或碱基编辑器中A3A或RNA引导的切口酶的稳定性。在一些实施方案中,所述异源性功能结构域可用作蛋白质降解的信号肽。在一些实施方案中,所述蛋白质降解可由蛋白水解酶介导,例如蛋白酶体、溶酶体蛋白酶或钙蛋白酶。在一些实施方案中,所述异源性功能结构域可包含PEST序列。在一些实施方案中,可通过添加泛素或聚泛素链来修饰多肽。在一些实施方案中,所述泛素可为泛素样蛋白(UBL)。泛素样蛋白的非限制性实例包括小泛素样修饰因子(SUMO)、泛素交叉反应性蛋白(UCRP,也称为干扰素刺激基因-15(ISG15))、泛素相关的修饰因子-1(URM1)、神经元前体细胞表达的发育下调蛋白-8(NEDD8,也称为酿酒酵母(S.cerevisiae)中的Rub1)、人类白细胞抗原F缔合蛋白(FAT10)、自体吞噬-8(ATG8)和自体吞噬-12(ATG12)、Fau泛素样蛋白(FUB1)、膜锚定的UBL(MUB)、泛素折叠修饰因子-1(UFM1)和泛素样蛋白-5(UBL5)。

[0594] 在一些实施方案中,所述异源性功能结构域可为标志物结构域。标志物结构域的非限制性实例包括荧光蛋白、纯化标签、表位标签和报告基因序列。在一些实施方案中,所述标志物结构域可为荧光蛋白。任何已知的荧光蛋白都可用作标志物结构域,例如GFP、

YFP、EBFP、ECFP、DsRed或任何其他适宜荧光蛋白。在一些实施方案中,所述标志物结构域可为纯化标签或表位标签。非限制性示例性标签包括谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、几丁质结合蛋白(CBP)、麦芽糖结合蛋白(MBP)、硫氧还蛋白(TRX)、聚(NANP)、串联亲和纯化(TAP)标签、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(SEQ ID NO:401)、8xHis(SEQ ID NO:402)、生物素羧基载体蛋白(BCCP)、聚His和钙调蛋白。在一些实施方案中,所述标志物结构域可为报告基因。非限制性示例性报告基因包括谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、辣根过氧化物酶(HRP)、氯霉素乙酰基转移酶(CAT)、β-半乳糖苷酶、β-葡萄糖醛酸苷酶、荧光素酶或荧光蛋白。

[0595] 在其他实施方案中,所述异源性功能结构域可使第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器靶向至具体细胞器、细胞类型、组织或器官。在一些实施方案中,所述异源性功能结构域可使第一基因组编辑器、碱基编辑器或第二基因组编辑器靶向至线粒体。

[0596] C.UTR;Kozak序列

[0597] 在一些实施方案中,本文所公开的核酸(例如mRNA)包含来自羟基类固醇17-β脱氢酶4(HSD17B4或HSD)或球蛋白(如人类α球蛋白(HBA)、人类β球蛋白(HBB)、光滑爪蟾(Xenopus laevis)β球蛋白(XBG))、牛生长激素、巨细胞病毒(CMV)、小鼠Hba-a1、热休克蛋白90(Hsp90)、甘油醛3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、β-肌动蛋白、α-微管蛋白、肿瘤蛋白(p53)或表皮生长因子受体(EGFR)的5′UTR、3′UTR或5′和3′UTR。

[0598] 在一些实施方案中,本文所阐述的核酸不包含5′UTR,例如在5′帽与起始密码子之间不存在其他核苷酸。在一些实施方案中,所述核酸在5′帽与起始密码子之间包含Kozak序列(阐述于下文中),但不具有任何其他5′UTR。在一些实施方案中,所述核酸不包含3′UTR,例如在终止密码子与聚A尾之间不存在其他核苷酸。

[0599] 在一些实施方案中,本文核酸包含Kozak序列。所述Kozak序列可影响翻译起始和从mRNA翻译的多肽的整体产率。Kozak序列包括可作为起始密码子起作用的甲硫氨酸密码子。最小Kozak序列为NNNRUGN,其中以下中的至少一者是真实的:第一N为A或G并且第二N为G。在核苷酸序列的情形中,R意指嘌呤(A或G)。在一些实施方案中,所述Kozak序列为RNNRUGN、NNNRUGG、RNNRUGG、RNNAUGN、NNNAUGG、RNNAUGG或GCCACCAUG。

[0600] D.聚A尾

[0601] 在一些实施方案中,本文所公开的核酸还包含多聚腺苷酸化(聚A)尾。所述聚A尾可包含至少8个连续腺嘌呤核苷酸,但也包含一个或多个非腺嘌呤核苷酸。如本文所用,“非腺嘌呤核苷酸”是指不包含腺嘌呤的任何天然或非天然核苷酸。鸟嘌呤、胸腺嘧啶和胞嘧啶核苷酸为示例性非腺嘌呤核苷酸。因此,本文所阐述核酸上的聚A尾可包含位于编码所关注多肽的核苷酸3′的连续腺嘌呤核苷酸。在一些情况中,核酸上的聚A尾包含位于编码多肽的核苷酸3′的非连续腺嘌呤核苷酸,其中非腺嘌呤核苷酸与腺嘌呤核苷酸以规则或不规则间隔间杂排列。

[0602] 在一些实施方案中,所述聚A尾在用于体外转录mRNA的质粒中编码并且变为转录本的一部分。在质粒中编码的聚A序列(即聚A序列中的连续腺嘌呤核苷酸的数量)可不为确切的,例如质粒中的100聚A序列(SEQ ID NO:403)在所转录的mRNA中可能并不产生恰好100聚A序列(SEQ ID NO:403)。在一些实施方案中,所述聚A尾不在质粒中编码,并且是通过PCR

加尾或酶促加尾例如使用大肠杆菌(E.coli)聚(A)聚合酶来添加。

[0603] 在一些实施方案中,所述一个或多个非腺嘌呤核苷酸经定位以中断连续腺嘌呤核苷酸,使得聚(A)结合蛋白可结合至一段连续腺嘌呤核苷酸。在一些实施方案中,一个或多个非腺嘌呤核苷酸位于至少8、9、10、11或12个连续腺嘌呤核苷酸(SEQ ID NO:404)之后。在一些实施方案中,一个或多个非腺嘌呤核苷酸位于8-50个连续腺嘌呤核苷酸(SEQ ID NO:405)之后。在一些实施方案中,一个或多个非腺嘌呤核苷酸位于8-100个连续腺嘌呤核苷酸(SEQ ID NO:406)之后。

[0604] 在一些实施方案中,所述聚A尾包含或含有一个非腺嘌呤核苷酸或2-10个非腺嘌呤核苷酸的一个连续区段。

[0605] 在一些实施方案中,所述非腺嘌呤核苷酸为鸟嘌呤、胞嘧啶或胸腺嘧啶。在一些情况中,在存在多于一种非腺嘌呤核苷酸的情形下,所述非腺嘌呤核苷酸可选自:a)鸟嘌呤和胸腺嘧啶核苷酸;b)鸟嘌呤和胞嘧啶核苷酸;c)胸腺嘧啶和胞嘧啶核苷酸;或d)鸟嘌呤、胸腺嘧啶和胞嘧啶核苷酸。

[0606] E.经修饰的核苷酸

[0607] 在一些实施方案中,本文所公开的核酸在一些或所有尿苷位置包含经修饰尿苷。在一些实施方案中,所述经修饰尿苷是在5位例如经卤素或C1-C3烷氧基修饰的尿苷。在一些实施方案中,所述经修饰尿苷是在1位例如经C1-C3烷基修饰的假尿苷。所述经修饰尿苷可为例如假尿苷、N1-甲基-假尿苷、5-甲氧基尿苷、5-碘尿苷或其组合。

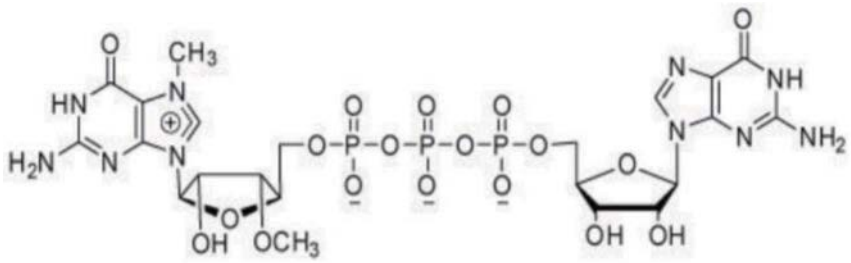
[0608] 在一些实施方案中,本文所公开的核酸中至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或100%的尿苷位置为经修饰尿苷。在一些实施方案中,本文所公开的mRNA中10%-25%、15-25%、25-35%、35-45%、45-55%、55-65%、65-75%、75-85%、85-95%或90-100%的尿苷位置为经修饰尿苷,例如5-甲氧基尿苷、5-碘尿苷、N1-甲基假尿苷、假尿苷或其组合。

[0609] 在一些实施方案中,至少10%的尿苷被经修饰尿苷取代。在一些实施方案中,15%至45%的尿苷被经修饰尿苷取代。在一些实施方案中,至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或100%的尿苷被经修饰尿苷取代。

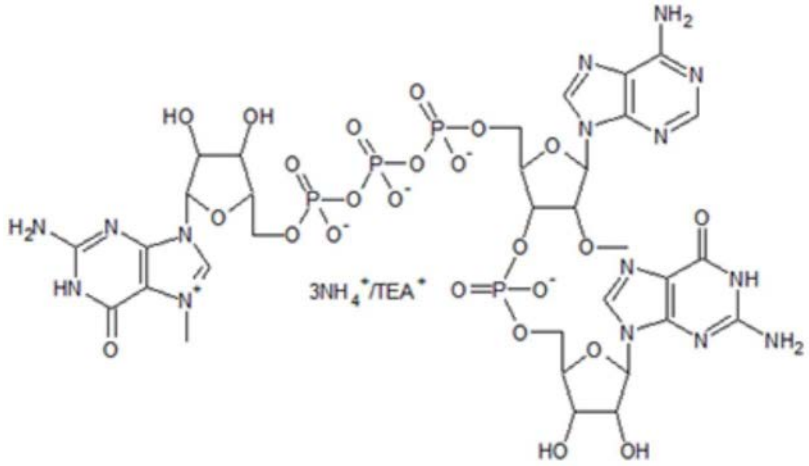
[0610] F.5′帽

[0611] 在一些实施方案中,本文所公开的核酸包含5′帽,如帽0、帽1或帽2。5′帽通常为7-甲基鸟嘌呤核糖核苷酸(其可进一步经修饰,如下文例如关于ARCA所论述),其经由5′-三磷酸酯连接至核酸中5′至3′链的第一核苷酸(即第一帽近端核苷酸)的5′位。在帽0中,mRNA的第一和第二帽近端核苷酸二者的核糖都包含2′一羟基。在帽1中,核酸的第一和第二转录核苷酸的核糖分别包含2′-甲氧基和2′-羟基。在帽2中,核酸的第一和第二帽近端核苷酸二者的核糖都包含2′-甲氧基。例如,参见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。大部分内源性高级真核核酸(包括哺乳动物核酸,如人类核酸)包含帽1或帽2。帽0和其他不同于帽1和帽2的帽结构可在哺乳动物(如人类)中具有免疫原性,这是由于其由先天性免疫系统的组分(如IFIT-1和IFIT-5)识别为“非自身”,其可导致细胞因子(包括I型干扰素)的水平升高。先天性免疫系统的组分(如IFIT-1和IFIT-5)也可与eIF4E竞争结合具有除帽1或帽2以外的帽的核酸,从而潜在地抑制核酸的翻译。

[0612] 可共转录性地包括帽。例如,ARCA(抗反向帽类似物;Thermo Fisher Scientific目录号AM8045)是包含连接至鸟嘌呤核糖核苷酸的5′位的7-甲基鸟嘌呤3′-甲氧基-5′-三磷酸酯的帽类似物,其可在起始时体外并入至转录本中。ARCA产生帽0帽或帽0样帽,其中第一帽近端核苷酸的2′位为羟基。例如,参见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结构示于下文中。

[0613] 

[0614] CleanCap™ AG(m7G(5′)ppp(5′)(2′OMeA)pG;TriLink Biotechn ologies目录号N-7113)或CleanCap™GG(m7G(5′)ppp(5′)(2′OMeG)pG;TriLink Biotechnologies目录号N-7133)可用于共转录提供Cap1结构。CleanCap™AG和CleanCap™GG的3′-O-甲基化形式也可从TriLink Biotechnologies分别以目录号N-7413和N-7433获得。Clean Cap™ AG结构示于下文中。CleanCap™结构在本文中有时使用上文所列示目录号的最后三个数字来提及(例如“CleanCap™ 113”是TriLink Biotechnologies目录号N-7113)。

[0615] 

[0616] 或者,可在转录后将帽添加至RNA中。例如,牛痘加帽酶是市售的(NewEngland Biolabs目录号M2080S),并且具有RNA三磷酸酶和鸟苷酸转移酶活性(由其D1亚基提供)和鸟嘌呤甲基转移酶活性(由其D12亚基提供)。因此,可在S-腺苷基甲硫氨酸和GTP存在下将7-甲基鸟嘌呤添加至RNA中以得到帽0。例如,参见Guo,P.和Moss,B.(1990)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87,4023-4027;Mao,X.和Shuman,S.(1994)J.Biol.Chem.269,24472-24479。关于帽和加帽方法的其他论述,参见例如WO2017/053297和Ishikawa等人,Nucl.Acids.Symp.Ser.(2009)第53期,129-130。

[0617] V.细胞

[0618] 在一些实施方案中,与第一基因组编辑工具或第二基因组编辑工具接触的细胞是人类细胞。

[0619] 在一些实施方案中,使细胞与以下接触:(a)第一基因组编辑工具,其中所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第一基因组编辑器同源的向导RNA(gRNA);和(b)第二基因组编辑工具,其中所述第二基因组编辑工具包含第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第二基因组编辑器同源的gRNA,其中所述第一基因组编辑器与所述第二基因组编辑器正交,由此在所述细胞中产生至少两种基因组编辑物。

[0620] 在一些实施方案中,使细胞与以下接触:(a)第一基因组编辑工具,其包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA);和(b)第二基因组编辑工具,其包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交,由此在所述细胞中产生至少两种基因组编辑物。

[0621] 在一些实施方案中,使细胞与以下接触:(a)第一基因组编辑工具,其包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA);和(b)第二基因组编辑工具,其包含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交;在一些实施方案中,(c)培养所述细胞,由此产生包含经编辑细胞的细胞群体,所述经编辑细胞的每个细胞包含至少两种基因组编辑物。

[0622] 在一些实施方案中,利用本文所公开的任何方法或组合物在体外处理细胞。在一些实施方案中,利用本文所公开的任何方法或组合物在体内处理细胞。

[0623] 在一些实施方案中,本文所提供的任一实施方案中的细胞由第一基因组编辑工具和第二基因组编辑工具工程化。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含C至T碱基编辑器或A至G碱基编辑器。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器,其包含胞苷脱氨酶和RNA引导的切口酶或编码多肽的核酸。在一些实施方案中,所述胞苷脱氨酶是APOBEC3A脱氨酶(A3A)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含与SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:146或SEQ ID NO:311至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,编码第一基因组编辑器的核酸包含与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:147或SEQ ID NO:310至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的序列。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器包含与SEQ ID NO:9、12、18和21中的任一者至少80%、85%、90%、95%、98%或100%同一的氨基酸序列。

[0624] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具经由电穿孔递送至细胞。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具是经由至少一种脂质纳米颗粒(LNP)递送至细胞。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具含于至少一种LNP中。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具在至少一种载体上递送至细胞。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具包含至少一种载体。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具是作为至少一种编码所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具的核酸递送。在一些实施方案中,所述第一

基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具包含至少一种编码所述第一基因组编辑工具或所述第二基因组编辑工具的核酸。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含至少一种包含所述第一基因组编辑工具的多肽或至少一种编码所述第一基因组编辑工具的核酸。在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具包含至少一种包含所述第二基因组编辑工具的多肽或至少一种编码所述第二基因组编辑工具的核酸。在一些实施方案中,所述至少一种核酸包含至少一种mRNA。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述第二基因组编辑器是作为至少一种多肽或至少一种mRNA递送至细胞。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述第二基因组编辑器包含至少一种多肽或至少一种mRNA。在一些实施方案中,所述至少一种gRNA是作为至少一种编码所述gRNA的多核苷酸递送至细胞。在一些实施方案中,使所述细胞与编码用于插入至基因组基因座中的外源基因的核酸接触。在一些实施方案中,使所述细胞与编码用于插入至TRAC或AAVS1基因座中的外源基因的核酸接触。

[0625] 在一些实施方案中,在本文所公开的任一方法中,接触细胞的步骤(a)和步骤(b)是同时实施的。在一些实施方案中,接触细胞的步骤(a)和步骤(b)是以任何顺序在约5分钟、10分钟、15分钟、30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、24小时、30小时、36小时或48小时的时间段内实施。在一些实施方案中,步骤(a)与步骤(b)各自在约5分钟、10分钟、15分钟、30分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、24小时、30小时、36小时或48小时的时间段内独立地实施。

[0626] 在一些实施方案中,所述细胞为免疫细胞。如本文所用,“免疫细胞”是指免疫系统的细胞,包括例如淋巴细胞(例如T细胞、B细胞、天然杀手细胞(“NK细胞”,和NKT细胞或iNKT细胞))、单核细胞、巨噬细胞、肥大细胞、树突细胞或颗粒细胞(例如嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞)。在一些实施方案中,所述细胞为原代免疫细胞。在一些实施方案中,所述免疫系统细胞可选自$CD3^+$、$CD4^+$和$CD8^+$T细胞、调控性T细胞(Treg)、B细胞、NK细胞和树突细胞(DC)。在一些实施方案中,所述免疫细胞为同种异体的。

[0627] 在一些实施方案中,所述细胞为淋巴细胞。在一些实施方案中,所述细胞为适应性免疫细胞。在一些实施方案中,所述细胞为T细胞。在一些实施方案中,所述细胞为B细胞。在一些实施方案中,所述细胞为NK细胞。

[0628] 如本文所用,T细胞可定义为表达T细胞受体(“TCR”或“αβ TCR”或“γδ TCR”)的细胞,然而在一些实施方案中,T细胞的TCR可经遗传修饰以降低其表达(例如通过对TRAC或TRBC基因的遗传修饰),因此蛋白质CD3的表达可用作通过标准流式细胞术方法鉴别T细胞的标志物。CD3是与TCR缔合的多亚基信号传导复合物。因此,T细胞可被称为CD3+。在一些实施方案中,T细胞是表达CD3+标志物以及CD4+或CD8+标志物的细胞。

[0629] 在一些实施方案中,所述T细胞表达糖蛋白CD8,并且因此通过标准流式细胞术方法为CD8+,并且可称为“细胞毒性”T细胞。在一些实施方案中,所述T细胞表达糖蛋白CD4,并且因此通过标准流式细胞术方法为CD4+,并且可称为“辅助”T细胞。CD4+T细胞可分化成子集,并且可称为Th1细胞、Th2细胞、Th9细胞、Th17细胞、Th22细胞、T调控性(“Treg”)细胞或T

滤泡辅助细胞(“Tfh”)。每个CD4+子集释放特定细胞因子,其可具有促炎性或抗炎性功能、存活或保护功能。T细胞可通过CD4+或CD8+选择方法从受试者分离。

[0630] 在一些实施方案中,所述T细胞为记忆T细胞。在体内,记忆T细胞遇到抗原。记忆T细胞可位于次级淋巴样器官中(中枢记忆T细胞)或最近感染的组织中(效应记忆T细胞)。记忆T细胞可为CD8+T细胞。记忆T细胞可为CD4+T细胞。

[0631] 如本文所用,“中枢记忆T细胞”可定义为经历抗原的T细胞,并且例如可表达CD62L和CD45RO。中枢记忆T细胞可按CD62L+和CD45RO+检测,由于中枢记忆T细胞也表达CCR7,因此可通过标准流式细胞术方法按CCR7+检测。

[0632] 如本文所用,“早期干细胞记忆T细胞”(或“Tscm”)可定义为表达CD27和CD45RA的T细胞,并且因此通过标准流式细胞术方法为CD27+和CD45RA+。Tscm不表达CD45同工型CD45RO,因此如果通过标准流式细胞术方法针对所述同工型进行染色,则Tscm将进一步为CD45RO-。因此,CD45RO-CD27+细胞也为早期干细胞记忆T细胞。Tscm细胞进一步表达CD62L和CCR7,因此可通过标准流式细胞术方法按CD62L+和CCR7+检测。已显示早期干细胞记忆T细胞与细胞治疗产品的持久性和治疗功效增加相关。

[0633] 在一些实施方案中,所述细胞为B细胞。如本文所用,“B细胞”可定义为表达CD19或CD20或B细胞成熟抗原(“BCMA”)的细胞,并且因此通过标准流式细胞术方法,B细胞为CD19+、或CD20+、或BCMA+。通过标准流式细胞术方法,B细胞的CD3和CD56进一步呈阴性。B细胞可为浆细胞。B细胞可为记忆B细胞。B细胞可为原初B细胞。B细胞可为IgM+,或具有类别转换B细胞受体(例如IgG+,或IgA+)。

[0634] 在一些实施方案中,所述细胞为单核细胞,例如来自骨髓或外周血。在一些实施方案中,所述细胞为外周血单核细胞(“PBMC”)。在一些实施方案中,所述细胞为PBMC,例如淋巴细胞或单核细胞。在一些实施方案中,所述细胞为外周血淋巴细胞(“PBL”)。

[0635] 在一些实施方案中,所述细胞源自编辑前的祖细胞。在一些实施方案中,所述细胞为诱导型多能干细胞(iPSC)。

[0636] ACT疗法中所用的细胞包括例如间质干细胞(例如从骨髓(BM)、外周血(PB)、胎盘、脐带(UC)或脂肪分离);造血干细胞(HSC;例如从BM分离);单核细胞(例如从BM或PB分离);内皮祖细胞(EPC;从BM、PB和UC分离);神经干细胞(NSC);缘干细胞(LSC);或组织特异性原代细胞或源自其的细胞(TSC)。ACT疗法中使用的细胞还包括诱导型多能干细胞(iPSC;例如,参见Mahla,Intemational J.CellBiol.2016(文章ID 6940283):1-24(2016)),所述细胞可经诱导以分化成其他细胞类型,包括例如胰岛细胞、神经元和血液细胞;眼干细胞;多能干细胞(PSC);胚胎干细胞(ESC);用于器官或组织移植的细胞,如胰岛细胞、心肌细胞、甲状腺细胞、胸腺细胞、神经元细胞、皮肤细胞、视网膜细胞、软骨细胞、肌细胞和角质细胞。

[0637] 在一些实施方案中,所述细胞为人类细胞,例如来自受试者的细胞。在一些实施方案中,所述细胞是从人类受试者中分离。在一些实施方案中,所述细胞是从患者中分离。在一些实施方案中,所述细胞是从供体中分离。在一些实施方案中,所述细胞是从人类供体PBMC或leukopak中分离。在一些实施方案中,所述细胞来自患有疾患、病症或疾病的受试者。在一些实施方案中,所述细胞来自具有爱泼斯坦-巴尔病毒(“Epstein Barr Virus/EBV”)的人类供体。

[0638] 在一些实施方案中,所述细胞对于HLA-B为同型合子的,并且对于HLA-C为同型合

子的。在一些实施方案中,所述细胞含有HLA-A基因中的遗传修饰,对于HLA-B为同型合子的并且对于HLA-C为同型合子的。在一些实施方案中,所述细胞对于HLA-A为同型合子的,并且对于HLA-C为同型合子的。在一些实施方案中,所述细胞含有HLA-B基因中的遗传修饰,并且对于HLA-A为同型合子的并且对于HLA-C为同型合子的。在一些实施方案中,所述细胞对于HLA-C为同型合子的。在一些实施方案中,所述细胞含有HLA-A基因中的遗传修饰和HLA-B基因中的遗传修饰,并且对于HLA-C为同型合子的。

[0639] 在一些实施方案中,离体进行本文所公开的方法。如本文所用,“离体”是指一种体外方法,其中细胞能够转移至受试者体内,例如作为ACT疗法。在一些实施方案中,离体方法是一种涉及ACT疗法细胞或细胞群体的体外方法。

[0640] 在一些实施方案中,所述细胞维持在培养物中。在一些实施方案中,所述细胞移植至患者中。在一些实施方案中,从受试者体内取出细胞,离体进行遗传修饰,并且接着施用回至同一患者。在一些实施方案中,从受试者体内取出细胞,离体进行遗传修饰,并且接着施用回至除取出细胞的受试者以外的受试者。

[0641] 在一些实施方案中,所述细胞来自细胞系。在一些实施方案中,所述细胞系源自人类受试者。在一些实施方案中,所述细胞系为淋巴母细胞样细胞系(“LCL”)。可将细胞冷冻保存并解冻。细胞先前可未冷冻保存。

[0642] 在一些实施方案中,所述细胞来自细胞库。在一些实施方案中,对所述细胞进行遗传修饰,并且接着转移至细胞库中。在一些实施方案中,从受试者体内取出细胞,离体进行遗传修饰,并且转移至细胞库中。在一些实施方案中,将经遗传修饰的细胞群体转移至细胞库中。在一些实施方案中,将经遗传修饰的免疫细胞群体转移至细胞库中。在一些实施方案中,将经遗传修饰的免疫细胞群体转移至细胞库中,所述群体包含第一亚群和第二亚群,其中所述第一亚群和所述第二亚群具有至少一种共同的遗传修饰和至少一种不同的遗传修饰。

[0643] 在一些实施方案中,细胞群体包含使用本文所公开的任何方法或组合物编辑的任何细胞。

[0644] 在一些实施方案中,细胞群体包含经编辑的T细胞,并且其中所述群体至少30%、40%、50%、55%、60%、65%的细胞具有记忆表型(CD27+、CD45RA+)。

[0645] 在一些实施方案中,细胞群体包含非活化的免疫细胞。在一些实施方案中,所述细胞群体包含活化的免疫细胞。

[0646] 在一些实施方案中,细胞群体包含T细胞,并且在编辑后对重复刺激有反应。在一些实施方案中,将细胞群体离体培养、扩增、分化或增殖。

[0647] VI.向导RNA和供体核酸

[0648] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第一基因组编辑器同源的向导RNA(gRNA)。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑工具包含含有碱基编辑器的第一基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述碱基编辑器同源的向导RNA(gRNA)。

[0649] 在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具包含第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述第二基因组编辑器同源的gRNA,其中所述第一基因组编辑器与所述第二基因组编辑器正交。在一些实施方案中,所述第二基因组编辑工具包

含含有RNA引导的裂解酶的第二基因组编辑器和至少一种靶向至少一个基因组基因座并且与所述RNA引导的裂解酶同源的gRNA,其中所述碱基编辑器与所述RNA引导的裂解酶正交。

[0650] 在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶不同源。在一些实施方案中,所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA与第一基因组编辑器或碱基编辑器不同源。

[0651] 在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含至少两种靶向至少两个不同基因组基因座的gRNA。在一些实施方案中,所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少两种靶向至少两个不同基因组基因座的gRNA。在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含至少三种靶向至少三个不同基因组基因座的gRNA。在一些实施方案中,所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少三种靶向至少三个不同基因组基因座的gRNA。在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含至少四种靶向至少四个不同基因组基因座的gRNA。在一些实施方案中,所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少四种靶向至少四个不同基因组基因座的gRNA。在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含至少五种靶向至少五个不同基因组基因座的gRNA。在一些实施方案中,所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少五种靶向至少五个不同基因组基因座的gRNA。在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含至少六种靶向至少六个不同基因组基因座的gRNA。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器和所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源并且靶向不同基因组基因座的gRNA中的一者、两者、三者、四者、五者或六者含于同一脂质纳米颗粒(LNP)中。在一些实施方案中,所述碱基编辑器或所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少六种靶向至少六个不同基因组基因座的gRNA。

[0652] A.靶序列和基因

[0653] 在一些实施方案中,本公开的方法和组合物利用CRISPR/Cas系统裂解由向导RNA靶向的至少一个基因组基因座的靶序列。例如,靶序列可由Cas核酸酶识别并裂解。在一些实施方案中,Cas核酸酶的靶序列位于核酸酶的同源PAM序列附近。在一些实施方案中,2类Cas核酸酶可由gRNA引导至基因的靶序列,其中所述gRNA与所述靶序列杂交并且所述2类Cas蛋白裂解所述靶序列。在一些实施方案中,向导RNA与靶序列杂交并且2类Cas核酸酶裂解靶序列,所述靶序列毗邻或包含其同源PAM。在一些实施方案中,靶序列可与向导RNA的靶向序列互补。在一些实施方案中,向导RNA的靶向序列与相应靶序列中同向导RNA杂交的部分之间的互补性程度可为约80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或100%。在一些实施方案中,向导RNA的靶向序列与相应靶序列中同向导RNA杂交的部分之间的同一性百分比可为约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或100%。在一些实施方案中,靶标的同源区与同源PAM序列毗邻。在一些实施方案中,靶序列可包含与向导RNA的靶向序列100%互补的序列。在其他实施方案中,与向导RNA的靶向序列相比,靶序列可包含至少一个错配、缺失或插入。

[0654] 靶序列的长度可能取决于所用的核酸酶系统。例如,用于CRISPR/Cas系统的向导

RNA的靶向序列可包含长度为10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50或50个以上的核苷酸,并且靶序列具有相应长度,任选地毗邻PAM序列。在一些实施方案中,靶序列可包含长度为15-24个的核苷酸。在一些实施方案中,靶序列可包含长度为17-21个的核苷酸。在一些实施方案中,靶序列可包含长度为20个的核苷酸。在一些实施方案中,靶序列可包含长度为24个的核苷酸。当使用切口酶时,靶序列可包含一对靶序列,其由裂解DNA分子的相对链的一对切口酶识别。在一些实施方案中,靶序列可包含一对靶序列,其由裂解DNA分子的相同链的一对切口酶识别。在一些实施方案中,靶序列可包含由一种或多种Cas核酸酶识别的靶序列的一部分。

[0655] 靶核酸分子可为细胞内源或外源的任何DNA或RNA分子。在一些实施方案中,靶核酸分子可为游离型DNA、质粒、基因组DNA、病毒基因组或染色体DNA。在一些实施方案中,基因的靶序列可为来自细胞或细胞中的基因组序列,包括人类细胞。

[0656] 在其他实施方案中,靶序列可为病毒序列。在其他实施方案中,靶序列可为病原体序列。在其他实施方案中,靶序列可为合成序列。在其他实施方案中,靶序列可为染色体序列。在某些实施方案中,靶序列可包含易位接头,例如与癌症相关的易位。在一些实施方案中,靶序列可在真核染色体如人类染色体上。

[0657] 在一些实施方案中,靶序列可位于基因组基因座中;例如,靶序列可位于基因的编码序列、基因的内含子序列、调控序列、基因的转录控制序列、基因的翻译控制序列、剪接位点或基因之间的非编码序列(例如基因间空间)中。在一些实施方案中,基因可为蛋白质编码基因。在其他实施方案中,基因可为非编码RNA基因。在一些实施方案中,靶序列可包含疾病相关基因的全部或一部分。在一些实施方案中,靶序列可位于基因组中的非基因功能位点中,例如控制染色质组织的方面的位点,如支架位点或基因座控制区。

[0658] 在涉及Cas核酸酶(如2类Cas核酸酶)的一些实施方案中,靶序列可与原间隔序列毗邻基序(“protospacer adjacent motif/PAM”)毗邻。在一些实施方案中,PAM可与靶序列3′端的1、2、3或4个核苷酸毗邻或在其内。PAM的长度和序列可取决于所用的Cas蛋白。例如,PAM可选自特定Spy Cas9蛋白或Spy Cas9直向同源物的一致或特定PAM序列,包括Ran等人,Nature,520:186-191(2015)的图1和Zetsche 2015的图S5中所公开的那些PAM序列,所述文献各自的相关公开内容通过引用并入本文。在一些实施方案中,PAM的长度可为2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸。非限制性示例性PAM序列包括NGG、NGGNG、NG、NAAAAN、NNAAAAW、NNNNACA、GNNNCNNA、TTN和NNNNGATT(其中N定义为任何核苷酸,并且W定义为A或T)。在一些实施方案中,PAM序列可为NGG。在一些实施方案中,PAM序列可为NGGNG。在一些实施方案中,PAM序列可为TTN。在一些实施方案中,PAM序列可为NNAAAAW。

[0659] 在一些实施方案中,PAM可选自特定Nme Cas9蛋白或Nme Cas9直向同源物的一致或特定PAM序列(Edraki等人,2019)。在一些实施方案中,Nme Cas9 PAM可包含2、3、4、5、6、7、8、9或10个长度的核苷酸。非限制性示例性PAM序列包括NCC、N4GAYW、N4GYTT、N4GTCT、NNNNCC(a)、NNNNCAAA(其中N定义为任何核苷酸,W定义为A或T,并且R定义为A或G;并且(a)为第二个C之后的优选但非必需的A)。在一些实施方案中,PAM序列可为NCC。

[0660] 在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA或所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含至少一种单一向导RNA(sgRNA)。在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源

的gRNA或所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA为短单一向导RNA(短sgRNA),所述短sgRNA包含含有发夹区的sgRNA保守部分,其中所述发夹区缺少至少5-10个核苷酸并且其中所述短sgRNA包含5′端修饰或3′端修饰或两者。

[0661] 在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA靶向一个或多个选自以下的基因:TRBC基因座、HLA-A基因座、HLA-B基因座、CIITA基因座、HLA-DR基因座、HLA-DQ基因座和HLA-DP基因座。在一些实施方案中,所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA靶向一个或多个选自以下的基因组基因座:TRAC基因座、AAVS1基因座和CIITA基因座。

[0662] 在一些实施方案中,(i)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向HLA-A基因座的gRNA和靶向CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向TRAC基因座的gRNA;(ii)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向TRBC基因座的gRNA、靶向HLA-A基因座的gRNA和靶向CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向TRAC基因座的gRNA;(iii)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向HLA-A基因座的gRNA、靶向HLA-B基因座的gRNA和靶向CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向TRAC基因座的gRNA;(iv)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向TRBC基因座的gRNA、靶向HLA-A基因座的gRNA、靶向HLA-B基因座的gRNA和靶向CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向TRAC基因座的gRNA;(v)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向HLA-A基因座的gRNA和靶向HLA-DR基因座、HLA-DQ基因座或HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向TRAC基因座的gRNA;(vi)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向TRBC基因座的gRNA、靶向HLA-A基因座的gRNA和靶向HLA-DR基因座、HLA-DQ基因座或HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向TRAC基因座的gRNA;(vii)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向HLA-A基因座的gRNA、靶向HLA-B基因座的gRNA和靶向HLA-DR基因座、HLA-DQ基因座或HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向TRAC基因座的gRNA;(viii)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向TRBC基因座的gRNA、靶向HLA-A基因座的gRNA、靶向HLA-B基因座的gRNA和靶向HLA-DR基因座、HLA-DQ基因座或HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向TRAC基因座的gRNA;(ix)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向TRAC基因座的gRNA、靶向TRBC基因座的gRNA、靶向CIITA基因座的gRNA和靶向HLA-A基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向TRAC基因座的gRNA;(x)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向TRBC基因座的gRNA、靶向HLA-A基因座的gRNA和靶向CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向AAVS1基因座的gRNA;(xi)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向TRBC基因座的gRNA、靶向

HLA-A基因座的gRNA、靶向HLA-B基因座的gRNA和靶向CIITA基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向AAVS1基因座的gRNA;(xii)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向TRBC基因座的gRNA、靶向HLA-A基因座的gRNA和靶向HLA-DR基因座、HLA-DQ基因座或HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向AAVS1基因座的gRNA;(xiii)所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含靶向TRBC基因座的gRNA、靶向HLA-A基因座的gRNA、靶向HLA-B基因座的gRNA和靶向HLA-DR基因座、HLA-DQ基因座或HLA-DP基因座的gRNA,并且所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向AAVS1基因座的gRNA。

[0663] 在一些实施方案中,在上文子部分(i)至(ix)中的任一者中,所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向AAVS1基因座的另一gRNA。在一些实施方案中,在上文子部分(x)至(xiii)中的任一者中,所述至少一种与第二基因组编辑器或RNA引导的裂解酶同源的gRNA包含靶向TRAC基因座的另一gRNA。在一些实施方案中,在使细胞与靶向TRAC基因座的gRNA接触后,使细胞与靶向AAVS1基因座的另一gRNA接触。在一些实施方案中,在使细胞与靶向AAVS1基因座的gRNA接触后,使细胞与靶向TRAC基因座的另一gRNA接触。

[0664] B.经修饰的gRNA

[0665] 在sgRNA的情形下,上述向导序列还可包含其他核苷酸以形成sgRNA,例如在向导序列3′端后的以下示例性核苷酸序列:5′至3′定向的GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC (SE QID NO:226)。

[0666] 在sgRNA的情形下,上述向导序列还可包含其他核苷酸以形成sgRNA,例如在向导序列3′端后的以下示例性核苷酸序列:5′至3′定向的GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUU U(SEQ ID NO:227)。

[0667] 在sgRNA的情形下,可将向导序列整合至以下经修饰的基序中:mN*mN*mN*NNNNNNNNNNNNNNNNNGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU(SEQ ID NO:228),其中“N”可为任何天然或非天然核苷酸,优选为RNA核苷酸;核苷酸的糖部分可为核糖、脱氧核糖或具有取代的类似化合物;m为2′-O-甲基修饰的核苷酸,并且*为与毗邻核苷酸残基的硫代磷酸酯键联;并且其中N共同为向导序列的核苷酸序列。在经修饰序列的情形中,除非另有指示,否则A、C、G、N和U为未经修饰的RNA核苷酸,即与毗邻核苷酸残基具有磷酸二酯酶键联的2′-OH糖部分,或5′末端PO4。

[0668] 在sgRNA的情形下,向导序列还可包含SpyCas9 sgRNA序列。SpyCas9 sgRNA序列的实例示于表YY中(SEQ ID NO:226:GUUUUAGAGC UAGAAAUAGC AAGUUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAAC UUGAAAAAGU GGCACCGAGU CGGUGC-“示例性SpyCas9 sgRNA-1”),其包括在向导序列的3′端,并且与下表YY中所示的结构域一起提供。LS为下茎。B为凸起。US为上茎。H1与H2分别为发夹1与发夹2。H1与H2统称为发夹区。所述结构的模型在WO2019237069的图10A中提供,所述文件通过引用并入本文。

[0669] 示例性SpyCas9 sgRNA-1的核苷酸序列可用作特定化学修饰、序列取代和截短的模板序列。

[0670] 在某些实施方案中,gRNA为例如sgRNA或dgRNA,并且其任选地包含化学修饰。在一些实施方案中,经修饰的sgRNA包含向导序列和SpyCas9 sgRNA序列,例如示例性SpyCas9 sgRNA-1。gRNA(如sgRNA)可在向导序列的5′端上或SpyCas9 sgRNA序列的3′端上包括修饰,例如在一个或多个末端核苷酸处的示例性SpyCas9sgRNA-1,例如在3′端或5′端的1、2、3或4个核苷酸处。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸选自2′-O-甲基(2′-OMe)修饰的核苷酸、2′-O-(2-甲氧基乙基)(2′-O-moe)修饰的核苷酸、2′-氟(2′-F)修饰的核苷酸、核苷酸之间的硫代磷酸酯(PS)键联或反向无碱基修饰的核苷酸;或其组合。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸包括2′-OMe修饰的核苷酸。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸包括PS键联。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸包括2′-OMe修饰的核苷酸和PS键联。

[0671] 在某些实施方案中,使用SEQ ID NO:226(“示例性SpyCas9sgRNA-1”)作为实例,示例性SpyCas9 sgRNA-1还包括以下中的一者或多者:(A)缩短的发夹1区或经取代并且任选地缩短的发夹1区,其中(1)发夹1中以下核苷酸对中的至少一者被沃森-克里克(Watson-Crick)配对核苷酸取代:H1-1和H1-12、H1-2和H1-11、H1-3和H1-10、或H1-4和H1-9,并且所述发夹1区任选地缺少(a)H1-5至H1-8中的任一者或两者,(b)以下核苷酸对中的一者、两者或三者:H1-1和H1-12、H1-2和H1-11、H1-3和H1-10、和H1-4和H1-9,或(c)发夹1区的1-8个核苷酸;或(2)所述缩短的发夹1区缺少4-8个核苷酸、优选4-6个核苷酸,并且(a)相对于示例性SpyCas9 sgRNA-1(SEQ ID NO:226),位置H1-1、H1-2或H1-3中的一者或多者缺失或被取代,或(b)相对于示例性SpyCas9 sgRNA-1(SEQ ID NO:226),位置H1-6至H1-10中的一者或多者被取代;或(3)所述缩短的发夹1区缺少5-10个核苷酸、优选5-6个核苷酸,并且相对于示例性SpyCas9 sgRNA-1(SEQ ID NO:226),位置N18、H1-12或n中的一者或多者被取代;或(B)缩短的上茎区,其中所述缩短的上茎区缺少1-6个核苷酸并且其中相对于示例性SpyCas9 sgRNA-1(SEQ ID NO:226),所述缩短的上茎区的6、7、8、9、10或11个核苷酸包括少于或等于4个取代;或(C)相对于示例性SpyCas9 sgRNA-1(SEQ ID NO:226),在LS6、LS7、US3、US10、B3、N7、N15、N17、H2-2和H2-14中的任一者或多者处的取代,其中取代基核苷酸既不为后面为腺嘌呤的嘧啶,也不为前面为嘧啶的腺嘌呤;或(D)具有上茎区的示例性SpyCas9sgRNA-1(SEQ ID NO:226),其中上茎修饰包含对所述上茎区中的US1-US12中的任一者或多者的修饰,其中(1)经修饰的核苷酸任选地选自2′-O-甲基(2′-OMe)修饰的核苷酸、2′-O-(2-甲氧基乙基)(2′-O-moe)修饰的核苷酸、2′-氟(2′-F)修饰的核苷酸、核苷酸之间的硫代磷酸酯(PS)键联、反向无碱基修饰的核苷酸或其组合;或(2)经修饰的核苷酸任选地包括2′-OMe修饰的核苷酸。

[0672] 在一些实施方案中,sgRNA包含本文所公开的经修饰的基序,包括SEQ ID NO:228-242和246-250、312-314中的任一者的经修饰基序或序列表格中所示的任何其他经修饰的基序,其中“N”可为任何天然或非天然核苷酸、优选RNA核苷酸;核苷酸的糖部分可为核糖、脱氧核糖或具有取代的类似化合物;m为2′-O-甲基修饰的核苷酸,并且*为与毗邻核苷酸残基的硫代磷酸酯键联;并且其中N共同为向导序列的核苷酸序列。

[0673] 在某些实施方案中,使用SEQ ID NO:400(如表20中所示的“示例性NmeCas9 sgRNA-1”)作为实例,示例性NmeCas9 sgRNA-1包括:(A)向导RNA(gRNA),其包含向导区和保守区,所述保守区包含以下中的一者或多者:(a)缩短的重复序列/抗重复序列区,其中所述缩短的重复序列/抗重复序列区缺少2-24个核苷酸,其中(i)相对于SEQ ID NO:400,核苷酸

37-48和53-64中的一者或多者缺失并且任选地核苷酸37-64中的一者或多者被取代;和(ii)核苷酸36由至少2个核苷酸连接至核苷酸65;或(b)缩短的发夹1区,其中所述缩短的发夹1缺少2-10个、任选地2-8个核苷酸,其中(i)相对于SEQ ID NO:400,核苷酸82-86和91-95中的一者或多者缺失并且任选地位置82-96中的一者或多者被取代;和(ii)核苷酸81由至少4个核苷酸连接至核苷酸96;或(c)缩短的发夹2区,其中所述缩短的发夹2缺少2-18个、任选地2-16个核苷酸,其中(i)相对于SEQ ID NO:400,核苷酸113-121和126-134中的一者或多者缺失并且任选地核苷酸113-134中的一者或多者被取代;和(ii)核苷酸112由至少4个核苷酸连接至核苷酸135;其中相对于SEQ ID NO:400,一个或全部两个核苷酸144-145任选地缺失;其中任选地至少10个核苷酸为经修饰的核苷酸。

[0674] 示例性未经修饰的保守部分核苷酸序列包括:GUUGUAGCUCCCUUUCUCAUUUCGGAAACGAAAUGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCCUUAAAGCUUCUGCUUUAAGGGGCAUCGUUUA(SEQ ID NO:243);GUUGUAGCU CCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU(SEQ ID NO:244),和GUUGUAGCUCCCU GGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU(SEQ ID NO:245)。

[0675] 在sgRNA的情形下,可将向导序列整合至以下示例性经修饰的保守部分基序中的一者中:GUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCG UUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU(SEQ ID NO:246)和GUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUm GmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU(SEQ ID NO:247)。

[0676] 在某些实施方案中,向导序列的长度为20-25个核苷酸((N)20-25),其中每个核苷酸可独立地经修饰。在某些实施方案中,向导5′端的核苷酸1-3中的每一者独立地经修饰。在某些实施方案中,向导5′端的核苷酸1-3中的每一者独立地经2′-OMe修饰进行修饰。在某些实施方案中,向导5′端的核苷酸1-3中的每一者独立地经与毗邻核苷酸残基的硫代磷酸酯键联修饰。在某些实施方案中,向导5′端的核苷酸1-3中的每一者独立地经2′-OMe修饰和与毗邻核苷酸残基的硫代磷酸酯键联修饰。

[0677] 在sgRNA的情形下,可将经修饰的向导序列整合至以下示例性经修饰的保守部分基序中的一者中:mN*mNNNNNNNmNNNmNNNNNNN NNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU(SEQ ID NO:248);$(N)_{20-25}$GUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCU AmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGm AmAmAmGmAmUGUGC mCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU(SEQ ID NO:249);mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU(SEQ ID NO:250);或mN*mN*mN*mNmNNNmN mNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU(SEQ ID NO:312)、mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNN mNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU(SEQ ID NO:313);mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAm

GmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU(SEQ ID NO:314)中的任一者。

[0678] 在某些实施方案中,示例性SpyCas9sgRNA-1或sgRNA(例如包含示例性SpyCas9sgRNA-1的sgRNA)还包括3′尾,例如1、2、3、4或更多个核苷酸的3′尾。在某些实施方案中,所述尾包括一个或多个经修饰的核苷酸。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸选自2′-O-甲基(2′-OMe)修饰的核苷酸、2′-O-(2-甲氧基乙基)(2′-O-moe)修饰的核苷酸、2′-氟(2′-F)修饰的核苷酸、核苷酸之间的硫代磷酸酯(PS)键联、反向无碱基修饰的核苷酸;或其组合。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸包括2′-OMe修饰的核苷酸。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸包括核苷酸之间的PS键联。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸包括2′-OMe修饰的核苷酸和核苷酸之间的PS键联。

[0679] 在某些实施方案中,发夹区包括一个或多个经修饰的核苷酸。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸选自2′-O-甲基(2′-OMe)修饰的核苷酸、2′-O-(2-甲氧基乙基)(2′-O-moe)修饰的核苷酸、2′-氟(2′-F)修饰的核苷酸、核苷酸之间的硫代磷酸酯(PS)键联、反向无碱基修饰的核苷酸;或其组合。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸包括2′-OMe修饰的核苷酸。

[0680] 在某些实施方案中,上茎区包括一个或多个经修饰的核苷酸。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸选自2′-O-甲基(2′-OMe)修饰的核苷酸、2′-O-(2-甲氧基乙基)(2′-O-moe)修饰的核苷酸、2′-氟(2′-F)修饰的核苷酸、核苷酸之间的硫代磷酸酯(PS)键联、反向无碱基修饰的核苷酸;或其组合。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸包括2′-OMe修饰的核苷酸。

[0681] 在某些实施方案中,示例性SpyCas9 sgRNA-1包含一个或多个YA二核苷酸,其中Y为嘧啶,其中YA二核苷酸包括经修饰的核苷酸。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸选自2′-O-甲基(2′-OMe)修饰的核苷酸、2′-O-(2-甲氧基乙基)(2′-O-moe)修饰的核苷酸、2′-氟(2′-F)修饰的核苷酸、核苷酸之间的硫代磷酸酯(PS)键联、反向无碱基修饰的核苷酸或其组合。在某些实施方案中,经修饰的核苷酸包括2′-OMe修饰的核苷酸。

[0682] 在某些实施方案中,示例性SpyCas9 sgRNA-1包含一个或多个YA二核苷酸,其中Y为嘧啶,其中YA二核苷酸包括序列取代的核苷酸,其中嘧啶取代嘌呤。在某些实施方案中,当嘧啶在单一向导中形成沃森-克里克碱基对时,序列取代的嘧啶核苷酸的基于沃森-克里克的核苷酸被取代以维持沃森-克里克碱基配对。

[0683] 在一些实施方案中,gRNA经化学修饰。包含一个或多个经修饰核苷或核苷酸的gRNA被称为“经修饰的”gRNA或“经化学修饰的”gRNA,以描述一种或多种非天然或天然存在的组分或构型的存在,所述组分或构型用于代替或补充规范A、G、C和U残基。在一些实施方案中,用非规范核苷或核苷酸合成经修饰的gRNA,在此称为“经修饰”。经修饰的核苷和核苷酸可包括以下中的一者或多者:(i)改变(例如置换)磷酸二酯主链键联中的一个或两个非连接性磷酸酯氧或一个或多个连接性磷酸酯氧(示例性主链修饰);(ii)改变(例如置换)核糖的组分(例如核糖上的2′羟基)(示例性糖修饰);(iii)修饰或置换天然核碱基,包括利用非规范核碱基(示例性碱基修饰);和(iv)修饰寡核苷酸的3′端或5′端以提供外核酸酶稳定性,例如经2′O-me、2′卤化物或2′脱氧取代的核糖修饰;或反向无碱基末端核苷酸,或用硫代磷酸酯置换磷酸二酯。

[0684] 化学修饰(例如上文所列示的那些修饰)可经组合以提供经修饰的gRNA或mRNA,其包含可具有两个、三个、四个或更多个修饰的核苷和核苷酸(统称为“残基”)。例如,经修饰的残基可具有经修饰的糖和经修饰的核碱基。在某些实施方案中,gRNA分子的所有或基本上所有磷酸酯基团经硫代磷酸酯基团置换。在一些实施方案中,经修饰的gRNA在RNA的5′端处或附近包含至少一个经修饰的残基。在一些实施方案中,经修饰的gRNA在RNA的3′端处或附近包含至少一个经修饰的残基。

[0685] 在一些实施方案中,gRNA包含一个、两个、三个或更多个经修饰的残基。在一些实施方案中,经修饰的gRNA中至少5%(例如至少5%、10%、15%、优选至少20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%)的位置为经修饰的核苷或核苷酸。在一些实施方案中,经修饰的向导RNA中至少5%的位置为经修饰的核苷酸或核苷。在一些实施方案中,经修饰的向导RNA中至少10%的位置为经修饰的核苷酸或核苷。在一些实施方案中,经修饰的gRNA中至少15%的位置为经修饰的核苷酸或核苷。在一些实施方案中,经修饰的gRNA中优选至少20%的位置为经修饰的核苷酸或核苷。在一些实施方案中,经修饰的gRNA中不超过65%的位置为经修饰的核苷酸。在一些实施方案中,经修饰的gRNA中不超过55%的位置为经修饰的核苷酸。在一些实施方案中,经修饰的gRNA中不超过50%的位置为经修饰的核苷酸。在一些实施方案中,经修饰的gRNA中10%-70%的位置为经修饰的核苷酸。在一些实施方案中,经修饰的gRNA中20%-70%的位置为经修饰的核苷酸。在一些实施方案中,经修饰的gRNA中20%-50%的位置为经修饰的核苷酸,并且核酸酶为SpyCas9核酸酶。在一些实施方案中,经修饰的gRNA中30%-70%的位置为经修饰的核苷酸,并且核酸酶为NmeCas9核酸酶。

[0686] 未经修饰的核酸可易于由例如细胞内核酸酶或血清中所发现的那些核酸酶降解。例如,核酸酶可水解核酸磷酸二酯键。因此,在一方面,本文所阐述的gRNA可含有一种或多种经修饰的核苷或核苷酸,例如以引入对细胞内或基于血清的核酸酶的稳定性。在一些实施方案中,本文所阐述的经修饰的gRNA分子在体内和离体引入至细胞群体中时,可展现出降低的先天性免疫反应。术语“先天性免疫反应”包括对外源核酸(包括单链核酸)的细胞反应,其涉及诱导细胞因子(特别是干扰素)表达和释放,以及细胞死亡。

[0687] 在主链修饰的一些实施方案中,经修饰残基的磷酸酯基团可通过用不同的取代基置换一个或多个氧而经修饰。此外,经修饰的残基(例如经修饰核酸中所存在的经修饰的残基)可包括用如本文所阐述的经修饰的磷酸酯基团置换未经修饰的磷酸酯部分。在一些实施方案中,磷酸酯主链的主链修饰可包括产生不带电接头或具有不对称电荷分布的带电接头的改变。

[0688] 经修饰的磷酸酯基团的实例包括硫代磷酸酯、硼烷基磷酸酯、甲基膦酸酯、氨基磷酸酯、二硫代磷酸酯、烷基或芳基膦酸酯和磷酸三酯。未经修饰的磷酸酯基团中的磷原子为非手性的。然而,用上述原子或原子团中的一者置换非桥接氧中的一者可使磷原子具有手性。立体源磷原子可具有“R”构型(本文为Rp)或“S”构型(本文为Sp)。也可通过用氮(桥接氨基磷酸酯)、硫(桥接硫代磷酸酯)和碳(桥接亚甲基膦酸酯)置换桥接氧(即,将磷酸酯与核苷连接的氧)来修饰主链。置换可在任一连接氧或在两个连接氧处发生。

[0689] 在某些主链修饰中,磷酸酯基团可由不含磷的连接基团(例如酰胺键联)置换。在一些实施方案中,带电的磷酸酯基团可由中性部分置换。可置换磷酸酯基团的部分的实例可包括(但不限于)例如甲基膦酸酯、羧基甲基、氨基甲酸酯、酰胺、硫醚。可置换磷酸酯基团

的部分的其他实例可包括(但不限于)例如环氧乙烷接头、磺酸酯、磺酰胺、硫代甲缩醛、甲缩醛、亚甲基亚氨基、亚甲基甲基亚氨基、亚甲基亚肼基、亚甲基二甲基亚肼基和亚甲基氧基甲基亚氨基。

[0690] 可模拟核酸的支架也可经构建,其中磷酸酯接头和核糖由核酸酶抗性核苷或核苷酸替代物置换。此类修饰可包含主链和糖修饰。在一些实施方案中,核碱基可由替代主链束缚。实例可包括(但不限于)吗啉基、环丁基、吡咯烷和肽核酸(PNA)核苷替代物。

[0691] 经修饰的核苷和经修饰的核苷酸可包括对糖基团的一种或多种修饰,即糖修饰。例如,2′羟基(OH)可经修饰,例如经多种不同“氧基”或“脱氧”取代基置换。在一些实施方案中,对2′羟基的修饰可增强核酸的稳定性,原因在于羟基不再能被去质子化以形成2′-醇盐离子。

[0692] 2′羟基修饰的实例可包括烷氧基或芳基氧基(OR,其中“R”可为例如烷基、环烷基、芳基、芳烷基、杂芳基或糖);聚乙二醇(PEG)、O(CH2CH2O)nCH2CH2OR,其中R可为例如H或任选地被取代的烷基,并且n可为0至20的整数(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、和4至20)。在一些实施方案中,2′羟基修饰可为2′-O-Me。在一些实施方案中,2′羟基修饰可为2′-氟修饰,其用氟化物置换2′羟基。在一些实施方案中,2′羟基修饰可包括“锁”核酸(LNA),其中2′羟基可例如由C1-6亚烷基或C1-6亚杂烷基桥连结至同一核糖的4′碳,其中示例性桥可包括亚甲基、亚丙基、醚或氨基桥;O-氨基(其中氨基可为例如NH2;烷基氨基、二烷基氨基、杂环基、芳基氨基、二芳基氨基、杂芳基氨基或二杂芳基氨基、乙二胺或多氨基)和氨基烷氧基、O(CH2)n-氨基(其中氨基可为例如NH2;烷基氨基、二烷基氨基、杂环基、芳基氨基、二芳基氨基、杂芳基氨基或二杂芳基氨基、乙二胺或多氨基)。在一些实施方案中,2′羟基修饰可包括“解锁”核酸(UNA),其中核糖环缺少C2′-C3′键。在一些实施方案中,2′羟基修饰可包括甲氧基乙基(MOE)、(OCH2CH2OCH3,例如PEG衍生物)。2′修饰可包括氢(即脱氧核糖);卤基(例如溴、氯、氟或碘);氨基(其中氨基可为例如NH2;烷基氨基、二烷基氨基、杂环基、芳基氨基、二芳基氨基、杂芳基氨基、二杂芳基氨基或氨基酸);NH(CH2CH2NH)nCH2CH2-氨基(其中氨基可例如如本文所阐述)、-NHC(O)R(其中R可为例如烷基、环烷基、芳基、芳烷基、杂芳基或糖)、氰基;巯基;烷基-硫基-烷基;硫烷氧基;和烷基、环烷基、芳基、烯基和炔基,其可任选地被例如如本文所阐述的氨基取代。

[0693] 糖修饰可包含糖基团,所述糖基团也可含有一个或多个所具有的立体化学构型与核糖中相应碳的立体化学构型相反的碳。因此,经修饰的核酸可包括含有例如阿拉伯糖作为糖的核苷酸。经修饰的核酸也可包括无碱基糖。这些无碱基糖也可在一个或多个组成糖原子处进一步经修饰。经修饰的核酸也可包括一种或多种呈L形式的糖,例如L-核苷酸。如本文所用,单一无碱基糖不应理解为导致双链体中断。

[0694] 在某些实施方案中,2′修饰包括例如包括2′-OMe、2′-F、2′-H、任选地2′-O-Me的修饰。

[0695] 可并入至经修饰的核酸中的本文所阐述的经修饰核苷和经修饰核苷酸可包括经修饰的碱基,也称为核碱基。核碱基的实例包括(但不限于)腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)和尿嘧啶(U)。这些核碱基可经修饰或完全经置换,以提供可并入至经修饰的核酸中的经修饰残基。核苷酸的核碱基可独立地选自嘌呤、嘧啶、嘌呤类似物或嘧啶类似物。在一些

实施方案中,核碱基可包括例如碱基的天然存在和合成衍生物。

[0696] 在采用双向导RNA的实施方案中,crRNA和tracr RNA中的每一者都可含有修饰。此类修饰可在crRNA或tracr RNA的一端或两端。在包含sgRNA的实施方案中,可化学修饰位于sgRNA的一端或两端的一个或多个残基,或者可修饰内部核苷,或者可化学修饰整个sgRNA。某些实施方案包含5′端修饰。某些实施方案包含3′端修饰。某些实施方案包含5′端修饰和3′端修饰。

[0697] 在一些实施方案中,本文所公开的向导RNA包含WO2018/107028中所公开的修饰模式之一,所述文献的内容特此通过引用整体并入。在一些实施方案中,本文所公开的向导RNA包含US20170114334中所公开的结构/修饰模式之一,所述文献的内容特此通过引用整体并入。在一些实施方案中,本文所公开的向导RNA包含WO2017/136794中所公开的结构/修饰模式之一,所述文献的内容特此通过引用整体并入。在一些实施方案中,本文所公开的向导RNA包含WO2019/237069中所公开的结构/修饰模式之一,所述文献的内容特此通过引用整体并入。在一些实施方案中,本文所公开的向导RNA包含WO2021/119275中所公开的结构/修饰模式之一,所述文献的内容特此通过引用整体并入。在一些实施方案中,本文所公开的向导RNA包含美国申请第63/275,426号中所公开的结构/修饰模式之一,所述文献的内容特此通过引用整体并入。

[0698] C.用于AAVS1编辑的示例性向导RNA、组合物、方法和工程化细胞

[0699] 本公开提供了一种靶向AAVS1基因座的向导RNA。靶向AAVS1基因座的向导序列以SEQ ID NO:251-264示于表5中。

[0700] 在一些实施方案中,根据来自人类参考基因组hg38的坐标,向导序列与下表5中所示的相应基因组区互补。其他实施方案的向导序列可与紧密靠近表5中所列示的基因组坐标的序列互补。例如,其他实施方案的向导序列可与包含表5中所列示基因组坐标的15个连续核苷酸±10个核苷酸的序列互补。

[0701] 在一些实施方案中,向导序列还可包含其他核苷酸以形成sgRNA,例如在向导序列3′端后的以下示例性核苷酸序列:5′至3′定向的GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU(SEQ ID NO:227)。向导序列还可包含其他核苷酸以形成sgRNA。

[0702] 在一些实施方案中,sgRNA包含下文在SEQ ID NO:141中所示的修饰模式,其中N为任何天然或非天然核苷酸,并且其中N的总体包含如本文所阐述的向导序列并且经修饰的sgRNA包含以下序列:mN*mN*mN*NNNNN NNNNNNNNNNNNGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU(SEQ ID NO:228),其中“N”可为任何天然或非天然核苷酸。例如,本文涵盖SEQ ID NO:228,其中N经本文所公开的任一向导序列置换。尽管用向导的核苷酸取代N,但修饰仍如SEQ ID NO:141中所示。也就是说,尽管向导的核苷酸置换“N”,但前三个核苷酸为2′OMe修饰的,并且在第一核苷酸与第二核苷酸之间、第二核苷酸与第三核苷酸之间和第三核苷酸与第四核苷酸之间存在硫代磷酸酯键联。

[0703] 在一些实施方案中,靶向TRAC的gRNA包含选自以下的向导序列:i)SEQ ID NO:251-264;ii)选自SEQ ID NO:251-264的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;iii)与选自SEQ ID NO:251-264的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;iv)包含表5中所列示

的基因组坐标的10个邻接核苷酸±10个核苷酸的序列;v)来自(iv)的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;或vi)与选自(v)的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列。

[0704] 在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:251。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:252。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:253。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:254。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:255。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:256。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:257。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:258。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:259。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:260。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:261。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:262。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:263。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:264。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:265。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:266。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:267。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:268。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:269。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:270。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:271。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:272。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:273。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:274。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:275。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:276。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:277。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:278。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:279。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:280。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:281。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:282。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:283。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:284。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:285。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:286。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:287。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:288。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:289。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:290。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:291。在一些实施方案中,向导序列包含SEQ ID NO:292。

[0705] 表5.AAVS1向导序列、向导RNA序列和染色体坐标

[0706]

向导ID	向导序列的SEQ ID NO	向导序列	示例性全序列(SEQ ID NO: 265-278)	示例性经修饰序列(SEQ ID NO: 279-292)	基因组坐标(hg38)
G000562	251	CCAAUAUCAGGAGACUAGGA	CCAAUAUCAGGAGACUAGGAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	mC*mC*mA*AUAUCAGGAGACUAGGAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115695-55115715
G013515	252	CCAUCGUAAGCAAACCUUAG	CCAUCGUAAGCAAACCUUAGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	mC*mC*mA*UCGUAAGCAAACCUUAGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115588-55115608

[0707]

向导ID	向导序列的SEQ ID NO	向导序列	示例性全序列(SEQ ID NO: 265-278)	示例性经修饰序列(SEQ ID NO: 279-292)	基因组坐标(hg38)
G013519	253	GCAAGGAGAGAGAUGGCUCC	GCAAGGAGAGAGAUGGCUCCGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	mG*mC*mA*AGGAGAGAGAUGGCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115616-55115636
G013520	254	GAGAGAUGGCUCCAGGAAAU	GAGAGAUGGCUCCAGGAAAUGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	mG*mA*mG*AGAUGGCUCCAGGAAAUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115623-55115643
G013523	255	GGUGACACACCCCCAUUUCCGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	mG*mG*mU*GACACACCCCCAUUUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115637-55115657
G013533	256	AGACCCAAUAUCAGGAGACU	AGACCCAAUAUCAGGAGACUGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	mA*mG*mA*CCCAAUAUCAGGAGACUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115691-55115711

[0708]

向导ID	向导序列的SEQ ID NO	向导序列	示例性全序列(SEQ ID NO: 265-278)	示例性经修饰序列(SEQ ID NO: 279-292)	基因组坐标(hg38)
G013543	257	UGUCCCUAGUGGCCCCACUGG	UGUCCCUAGUGGCCCCACUGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	mU*mG*mU*CCCUAGUGGCCCCACUGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115755-55115775
G013559	258	CCGGCCCUGGGAAUAUAAGG	CCGGCCCUGGGAAUAUAAGGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	mC*mC*mG*GCCCUGGGAAUAUAAGGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115823-55115843
G013562	259	AAUAUAAGGUGGUCCCAGCU	AAUAUAAGGUGGUCCCAGCUGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	mA*mA*mU*AUAAGGUGGUCCCAGCUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115834-55115854
G013563	260	AUAUAAGGUGGUCCCAGCUC	AUAUAAGGUGGUCCCAGCUCGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU	mA*mU*mA*UAAGGUGGUCCCAGCUCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115835-55115855

[0709]

向导ID	向导序列的SEQ ID NO	向导序列	示例性全序列(SEQ ID NO: 265-278)	示例性经修饰序列(SEQ ID NO: 279-292)	基因组坐标(hg38)
G013564	261	UAUAAGGUGGUCCCAGCUCG	UAUAAGGUGGUCCCAGCUCGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUU	mU*mA*mU*AAGGUGGUCCCAGCUCGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115836-55115856
G013565	262	GGAUCCUGUGUCCCCGAGCU	GGAUCCUGUGUCCCCGAGCUGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUU	mG*mG*mA*UCCUGUGUCCCCGAGCUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115850-55115870
G013582	263	CCUGUCAUGGCAUCUUCCAG	CCUGUCAUGGCAUCUUCCAGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUU	mC*mC*mU*GUCAUGGCAUCUUCCAGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115951-55115971
G013584	264	CCCUGGAAGAUGCCAUGACA	CCCUGGAAGAUGCCAUGACAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUU	mC*mC*mC*UGGAAGAUGCCAUGACAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	chr19:55115949-55115969

[0710] 如本文所用,术语“mA”、“mC”、“mU”或“mG”表示经2′-O-Me修饰的核苷酸;“*”表示PS修饰;术语A*、C*、U*或G*表示以PS键连接至下一个(例如3′)核苷酸的核苷酸。

[0711] 在一些实施方案中,本文提供了一种组合物,所述组合物包含:a.gRNA,其包含选自以下的向导序列:i)SEQ ID NO:251-264;ii)选自SEQ ID NO:251-264的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;iii)与选自SEQ ID NO:251-264的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;iv)包含表5中所列示的基因组坐标的10个邻接核苷酸±10个核苷酸的序列;v)来自(iv)的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;或vi)与选自(v)的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;或b.编码(a.)的gRNA的核酸。

[0712] 在一些实施方案中,本文提供了一种改变AAVS1基因内的DNA序列的方法,所述方法包括向细胞递送:a.gRNA,其包含选自以下的向导序列:i)SEQ ID NO:251-264;ii)选自SEQ ID NO:251-264的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;iii)与选自SEQ ID NO:251-264的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;iv)包含表5中所列示的基因组坐标的10个邻接核苷酸±10个核苷酸的序列;v)来自(iv)的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;或vi)与选自(v)的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;或b.编码(a.)的gRNA的核酸。

[0713] 在一些实施方案中,本文提供了免疫治疗方法,其包括向受试者施用包含工程化细胞的组合物,其中所述细胞包含AAVS1基因中的基因组修饰,其中遗传修饰包含选自以下的基因组坐标内的插入:chr19:55115695-55115715;chr19:55115588-55115608;chr19:55115616-55115636;chr19:55115623-55115643;chr19:55115637-55115657;chr19:55115691-55115711;chr19:55115755-55115775;chr19:55115823-55115843;chr19:55115834-55115854;chr19:55115835-55115855;chr19:55115836-55115856;chr19:55115850-55115870;chr19:55115951-55115971;和chr19:55115949-55115969;或其中通过向所述细胞中递送以下物质使所述细胞工程化:a.gRNA,其包含选自以下的向导序列:i)SEQ ID NO:251-264;ii)选自SEQ ID NO:251-264的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;iii)与选自SEQ ID NO:251-264的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;iv)包含表5中所列示的基因组坐标的10个邻接核苷酸±10个核苷酸的序列;v)来自(iv)的序列的至少17、18、19或20个邻接核苷酸;或vi)与选自(v)的序列至少95%、90%或85%同一的向导序列;或b.编码(a.)的gR NA的核酸。

[0714] 在一些实施方案中,本文提供了一种工程化细胞,其包含AAVS1基因中的遗传修饰,其中所述遗传修饰包含选自以下的基因组坐标内的插入:chr19:55115695-55115715;chr19:55115588-55115608;chr19:55115616-55115636;chr19:55115623-55115643;chr19:55115637-55115657;chr19:55115691-55115711;chr19:55115755-55115775;chr19:55115823-55115843;chr19:55115834-55115854;chr19:55115835-55115855;chr19:55115836-55115856;chr19:55115850-55115870;chr19:55115951-55115971;和chr19:55115949-55115969。

[0715] D.供体核酸

[0716] 本文所公开的组合物和方法可包括供体核酸,即编码外源基因的模板核酸。供体/模板核酸可用于在Cas核酸酶的靶位点或其附近(例如在遗传基因座处)改变或插入外源基因。在一些实施方案中,所述方法包括将模板引入至细胞中。在一些实施方案中,可提供单一模板。在其他实施方案中,可提供两个或更多个模板,使得编辑可在两个或更多个靶位点处发生。例如,可提供不同模板以编辑细胞中的单一基因或细胞中的两种不同基因。在一些

实施方案中,本文所公开的组合物和方法包括编码用于插入至TRAC、AAVS1或CIITA基因座中的外源基因的模板核酸。

[0717] 在一些实施方案中,模板可用于同源重组。在一些实施方案中,同源重组可使得模板序列或模板序列的一部分整合至靶序列中。在其他实施方案中,模板可用于同源定向修复,其涉及在靶序列中的裂解位点处的DNA链侵入。在一些实施方案中,同源定向修复可导致在所编辑的靶序列中包括模板序列。在其他实施方案中,模板可用于由非同源末端接合介导的基因编辑。在一些实施方案中,模板序列与裂解位点附近的靶序列没有相似性。在一些实施方案中,并入模板或模板序列的一部分。在一些实施方案中,模板包括侧翼反向末端重复(ITR)序列。

[0718] 在一些实施方案中,模板可包含分别与位于裂解位点上游和下游的序列互补的第一同源臂和第二同源臂(也称为第一和第二核苷酸序列)。在模板含有两个同源臂的情形下,每个臂可具有相同长度或不同长度,并且同源臂之间的序列可与同源臂之间的靶序列基本上相似或相同,或者其可完全不相关。在一些实施方案中,模板上的第一核苷酸序列与裂解位点上游的序列之间以及模板上的第二核苷酸序列与裂解位点下游的序列之间的互补性程度或同一性百分比可允许在模板与靶核酸分子之间进行同源重组,例如高保真同源重组。在一些实施方案中,互补性程度可为约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或100%。在一些实施方案中,互补性程度可为约95%、97%、98%、99%或100%。在一些实施方案中,互补性程度可为至少98%、99%或100%。在一些实施方案中,互补性程度可为100%。在一些实施方案中,同一性百分比可为约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或100%。在一些实施方案中,同一性百分比可为约95%、97%、98%、99%或100%。在一些实施方案中,同一性百分比可为至少98%、99%或100%。在一些实施方案中,同一性百分比可为100%。

[0719] 在一些实施方案中,模板序列可对应于、包含或由靶细胞的内源序列组成。其也可或替代地对应于、包含或由靶细胞的外源序列组成。如本文所用,术语“内源序列”是指对于细胞为天然的序列。术语“外源序列”是指对于细胞不为天然的序列,或其在细胞基因组中的天然位置为不同位置的序列。在一些实施方案中,内源序列可为细胞的基因组序列。在一些实施方案中,内源序列可为染色体或染色体外序列。在一些实施方案中,内源序列可为细胞的质粒序列。在一些实施方案中,模板序列可与细胞中裂解位点处或附近的内源序列的一部分基本上同一,但包含至少一个核苷酸变化。在一些实施方案中,用模板编辑裂解的靶序列可导致突变,其包含靶序列的一个或多个核苷酸的插入、缺失或取代。在一些实施方案中,突变可导致由包含靶序列的基因表达的蛋白质中的一个或多个氨基酸变化。

[0720] 在一些实施方案中,突变可导致由靶插入位点表达的RNA中的一个或多个核苷酸变化。在一些实施方案中,突变可改变靶基因的表达水平。在一些实施方案中,突变可导致靶基因的表达增加或减少。在一些实施方案中,突变可导致基因敲低。在一些实施方案中,突变可导致基因敲除。在一些实施方案中,突变可使得基因功能恢复。在一些实施方案中,用模板编辑裂解的靶核酸分子可导致靶核酸分子(如DNA)的外显子序列、内含子序列、调控序列、转录控制序列、翻译控制序列、剪接位点或非编码序列的变化。

[0721] 在其他实施方案中,模板序列可包含外源序列。在一些实施方案中,外源序列可包含编码序列。在一些实施方案中,外源序列可包含可操作地连接至外源启动子序列的蛋白

质或RNA编码序列(例如ORF),使得在将外源序列整合至靶序列中后,细胞能够表达由所整合的序列编码的蛋白质或RNA。在其他实施方案中,在将外源序列整合至靶核酸分子中后,所整合序列的表达可由内源性启动子序列调控。在一些实施方案中,外源序列可提供编码蛋白质或蛋白质的一部分的cDNA序列。在其他实施方案中,外源序列可包含以下序列或由以下序列组成:外显子序列、内含子序列、调控序列、转录控制序列、翻译控制序列、剪接位点或非编码序列。在一些实施方案中,整合外源序列可使得基因功能恢复。在一些实施方案中,整合外源序列可导致基因敲入。在一些实施方案中,整合外源序列可导致基因敲除。

[0722] 模板可具有任何适宜长度。在一些实施方案中,模板可包含长度为10、15、20、25、50、75、100、150、200、500、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000或更多个核苷酸。模板可为单链核酸。模板可为双链或部分双链核酸。在一些实施方案中,单链模板的长度为20、30、40、50、75、100、125、150、175或200个核苷酸。在一些实施方案中,模板可包含与构成靶序列的靶序列的一部分互补的核苷酸序列(即“同源臂”)。在一些实施方案中,模板可包含与位于靶序列上裂解位点上游或下游的序列互补的同源臂。

[0723] 在一些实施方案中,模板含有ssDNA或dsDNA,其含有侧翼反向末端重复(ITR)序列。在一些实施方案中,模板以载体、质粒、微环、纳米环或PCR产物形式提供。

[0724] VII.脂质核酸组装体

[0725] 以下部分提供基于脂质的递送组合物的其他特征,包括脂质纳米颗粒(LNP)和脂质复合物(lipoplex),其用于第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具或编码其的核酸。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具或编码其的核酸是经由至少一种脂质纳米颗粒(LNP)递送至细胞。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具或编码其的核酸含于至少一种LNP中。

[0726] 在一些实施方案中,LNP是指如通过动态光散射所测量,直径<100nm的脂质纳米颗粒,或平均直径<100nm的LNP群体。在一些实施方案中,粒度为数量平均值。在一些实施方案中,粒度为Z平均值。在某些实施方案中,如通过动态光散射所测量,LNP的直径为约1-250nm、10-200nm、约20-150nm、约35-150nm、约50-150nm、约50-100nm、约50-120nm、约60-100nm、约75-150nm、约75-120nm或约75-100nm,或LNP群体的平均直径为约10-200nm、约20-150nm、约35-150nm、约50-150nm、约50-100nm、约50-120nm、约60-100nm、约75-150nm、约75-120nm或约75-100nm。在优选实施方案中,LNP组合物的直径为75-150nm。

[0727] LNP是通过将脂质组分(例如于乙醇中)与水性核酸组分精确混合来形成,并且LNP的大小均匀。脂质复合物是通过大量混合脂质和核酸组分所形成的颗粒,并且大小介于约100nm与1微米之间。在某些实施方案中,脂质核酸组装体为LNP。如本文所用,“脂质核酸组装体”包含多个(即多于一个)通过分子间力彼此物理缔合的脂质分子。脂质核酸组装体可包含pKa值＜7.5或＜7的生物可利用脂质。脂质核酸组装体是通过混合含水性核酸的溶液与基于有机溶剂的脂质溶液(例如100％乙醇)来形成。适宜溶液或溶剂包括或可含有:水、PBS、Tris缓冲液、NaCl、柠檬酸盐缓冲液、乙醇、氯仿、二乙醚、环己烷、四氢呋喃、甲醇、异丙醇。药学上可接受的缓冲液可任选地包含在包含脂质核酸组装体的药物制剂中,例如用于离体ACT疗法。在一些实施方案中,水溶液包含RNA,如mRNA或gRNA。在一些实施方案中,水溶液包含编码RNA引导的DNA结合剂(如Cas9)的mRNA。

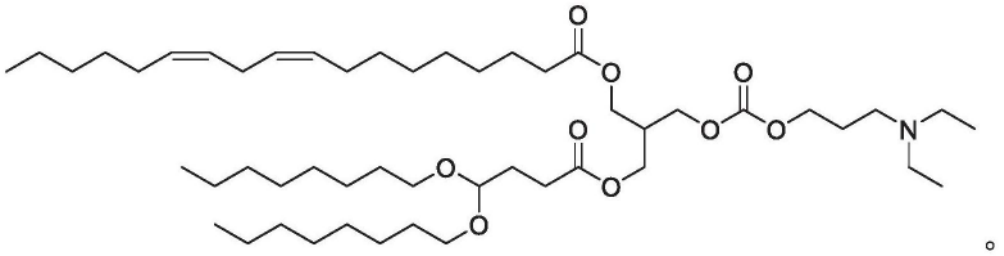
[0728] 在一些实施方案中,脂质核酸组装体制剂包括“胺脂质”(有时在此或别处描述为

“可电离脂质”或“生物可降解脂质”),以及任选的“辅助脂质”、“中性脂质”和隐形脂质,如PEG脂质。在一些实施方案中,取决于pH,胺脂质或可电离脂质是阳离子的。

[0729] A.胺脂质

[0730] 在一些实施方案中,LNP包含“胺脂质”,其为例如可电离脂质,如脂质A,或脂质D或其等效形式,包括脂质A或脂质D的缩醛类似物。

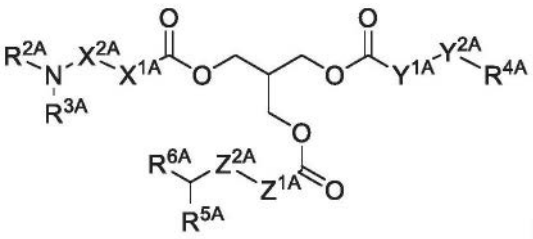
[0731] 在一些实施方案中,胺脂质为脂质A,其为十八-9,12-二烯酸(9Z,12Z)-3-((4,4-双(辛基氧基)丁酰基)氧基)-2-((((3-(二乙基氨基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基酯,也称为(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯酸3-((4,4-双(辛基氧基)丁酰基)氧基)-2-((((3-(二乙基氨基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基酯。脂质A可绘示为:

[0732] 

[0733] 脂质A可根据WO2015/095340(例如第84-86页)来合成。在一些实施方案中,胺脂质为脂质A,或WO2020/219876中所提供的胺脂质,所述文献特此通过引用并入。

[0734] 在一些实施方案中,胺脂质为脂质A的类似物。在一些实施方案中,脂质A类似物为脂质A的缩醛类似物。在特定LNP中,缩醛类似物为C4-C12缩醛类似物。在一些实施方案中,缩醛类似物为C5-C12缩醛类似物。在其他实施方案中,缩醛类似物为C5-C10缩醛类似物。在其他实施方案中,缩醛类似物选自C4、C5、C6、C7、C9、C10、C11和C12缩醛类似物。

[0735] 在一些实施方案中,胺脂质为具有式IA结构的化合物

[0736] 

(IA),

[0737] 其中

[0738] X1A为O、NH或直接键;

[0739] X2A为C2-3亚烷基;

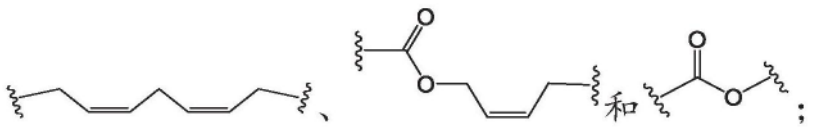
[0740] R3A为C1-3烷基;

[0741] R2A为C1-3烷基,或

[0742] R2A与其所连接的氮原子和X2A的2-3个碳原子一起形成5元或6元环,或

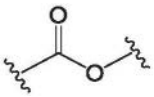
[0743] R2A与R3A和其所连接的氮原子一起形成5元环;

[0744] Y1A为C6-10亚烷基;

[0745] Y2A选自 

[0746] R4A为C4-11烷基;

[0747] Z1A为C2-5亚烷基;

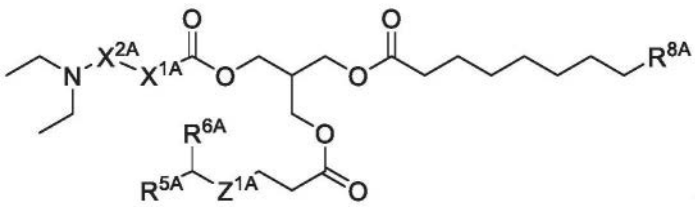
[0748] Z2A为或不存在;

[0749] R5A为C6-8烷基或C6-8烷氧基;并且

[0750] R6A为C6-8烷基或C6-8烷氧基

[0751] 或其盐。

[0752] 在一些实施方案中,胺脂质为式(IIA)化合物

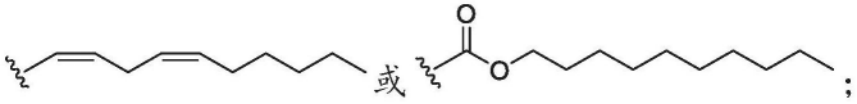
[0753] (IIA),

[0754] 其中

[0755] X1A为O、NH或直接键;

[0756] X2A为C2-3亚烷基;

[0757] Z1A为C3亚烷基,并且R5A和R6A各自为C6烷基,或Z1A为直接键,并且R5A和R6A各自为C8烷氧基;并且

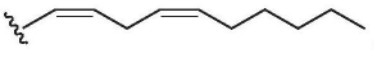
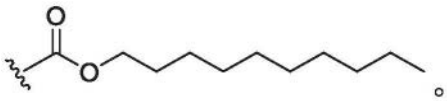
[0758] R8A为;

[0759] 或其盐。

[0760] 在某些实施方案中,X1A为O。在其他实施方案中,X1A为NH。在其他实施方案中,X1A为直接键。

[0761] 在某些实施方案中,X2A为C3亚烷基。在特定实施方案中,X2A为C2亚烷基。

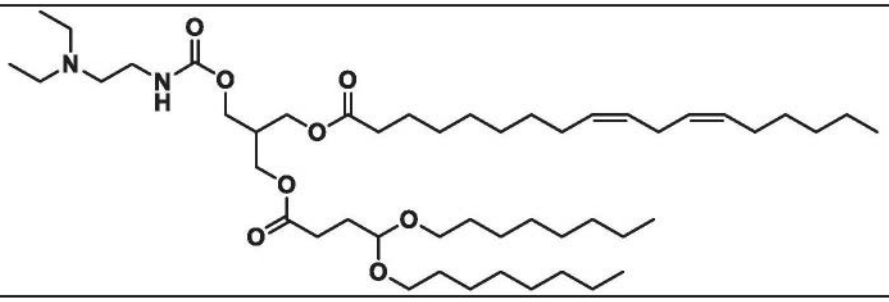
[0762] 在某些实施方案中,Z1A为直接键,并且R5A和R6A各自为C8烷氧基。在其他实施方案中,Z1A为C3亚烷基,并且R5A和R6A各自为C6烷基。

[0763] 在某些实施方案中,R8A为。在其他实施方案中,R8A为。

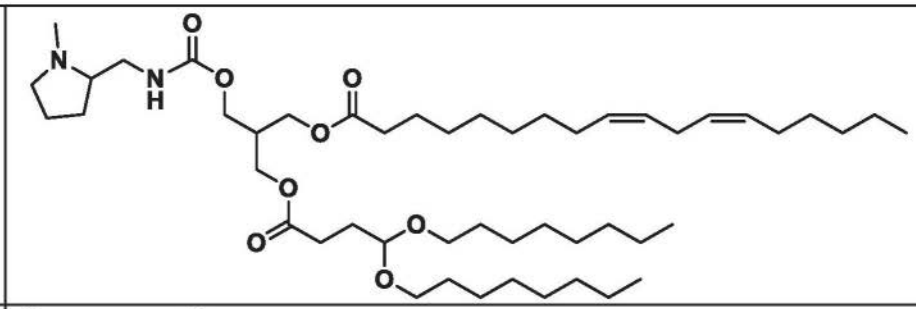
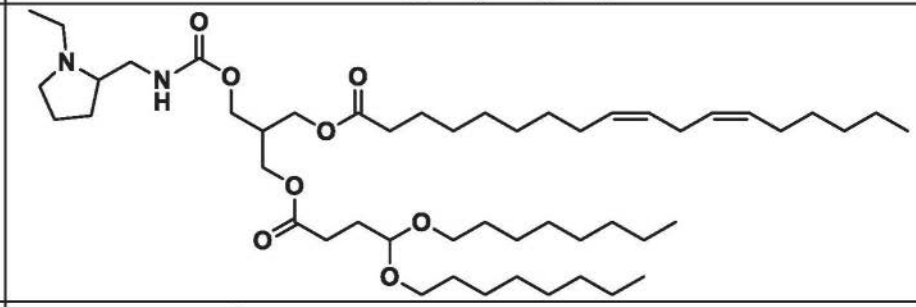
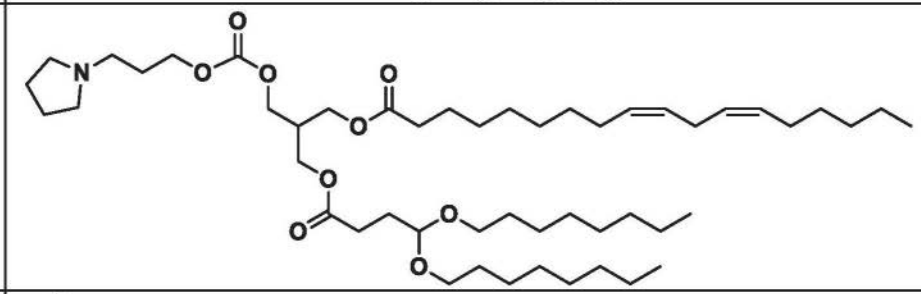
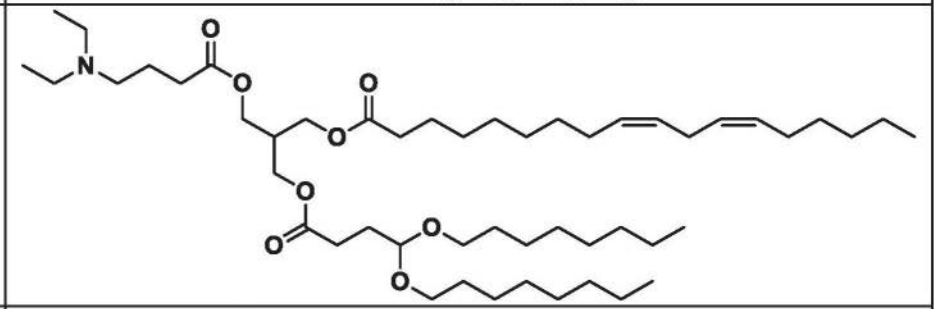
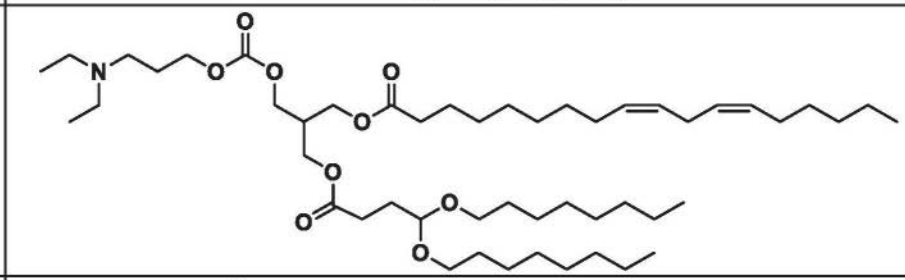
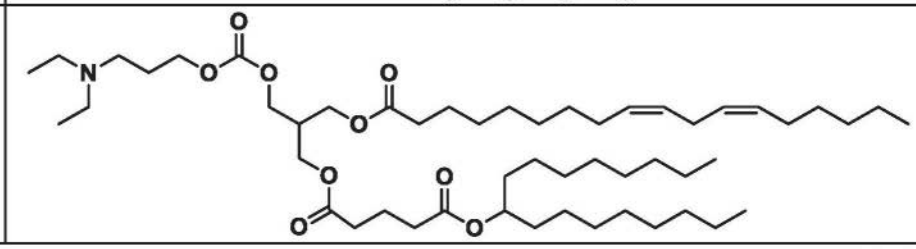
[0764] 在某些实施方案中,胺脂质为盐。

[0765] 代表性式(IA)化合物包括:

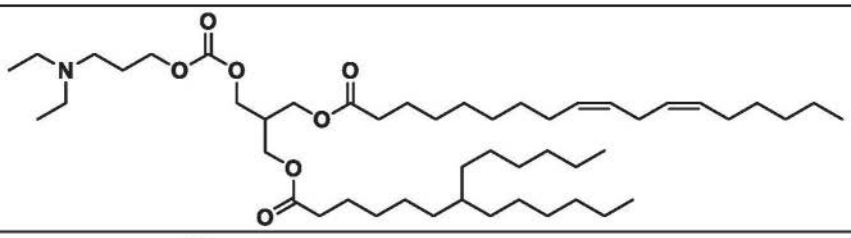
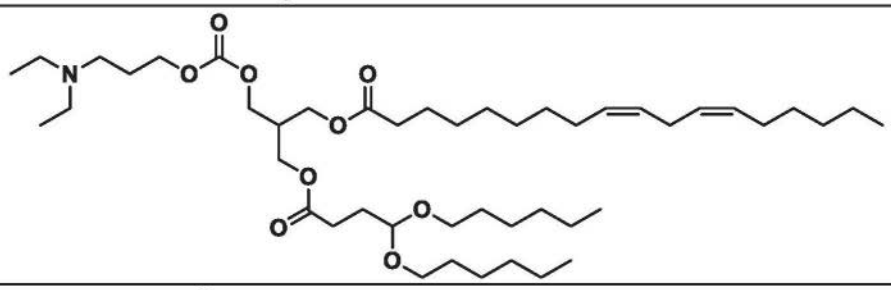
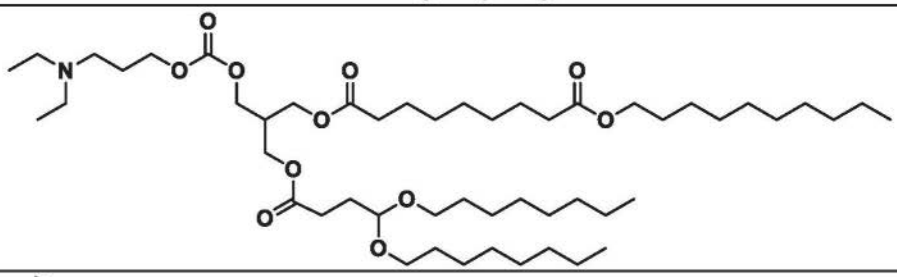
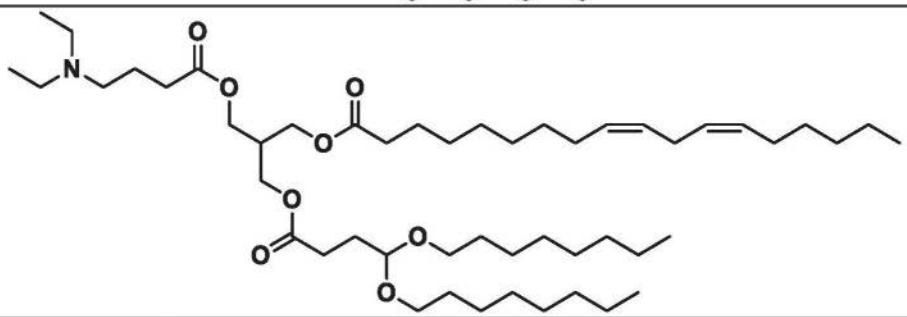
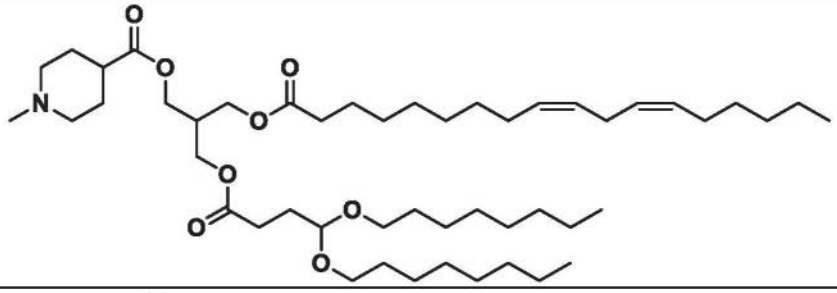
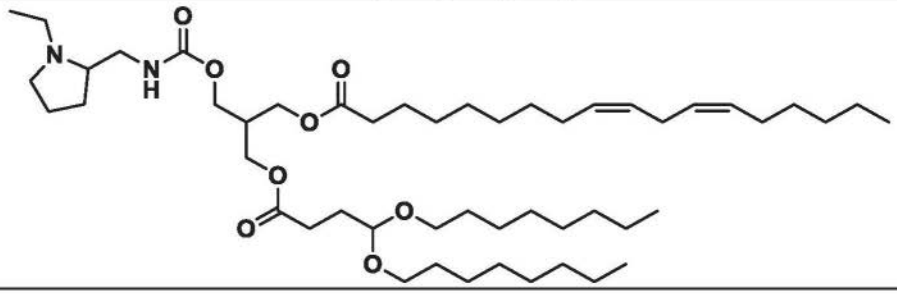
[0766]

化合物编号	化合物
1A	

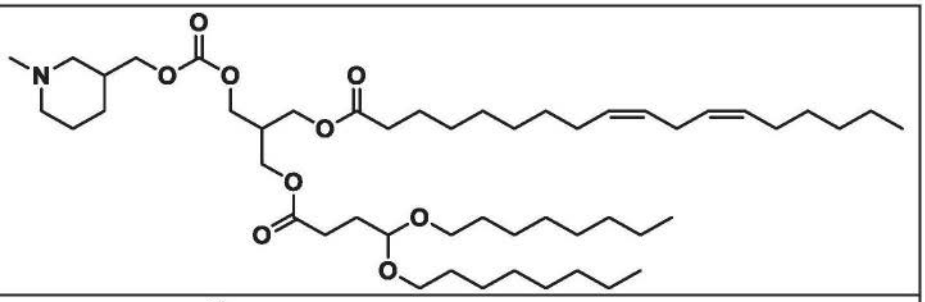
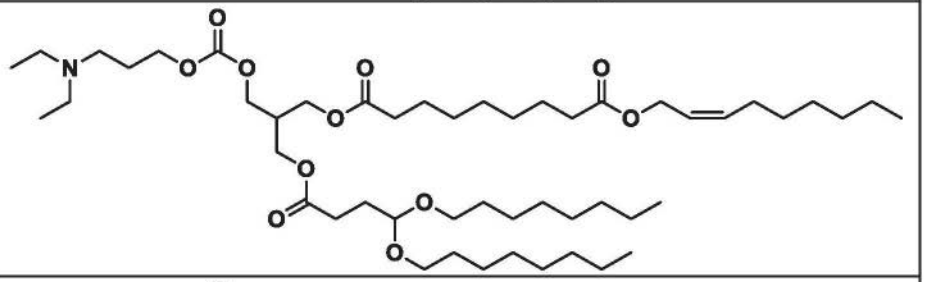
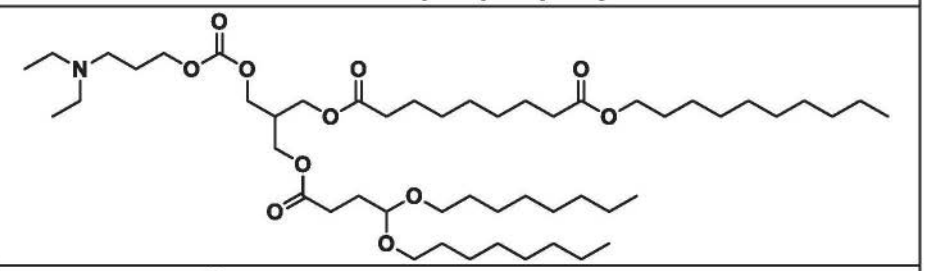
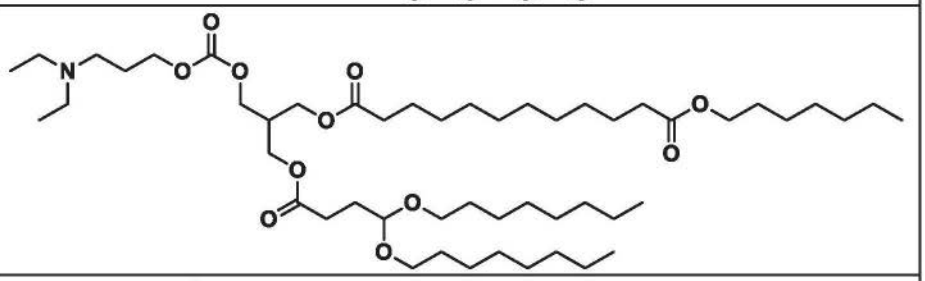
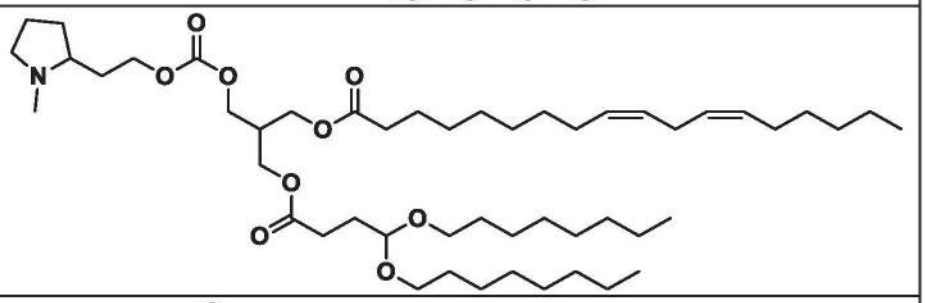
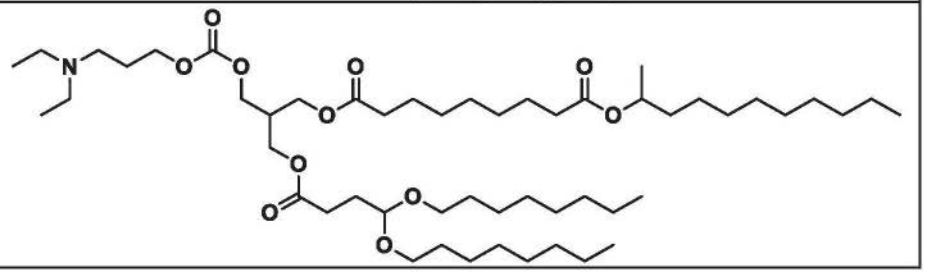
[0767]

2A	
3A	
4A	
5A	
6A	
7A	

[0768]

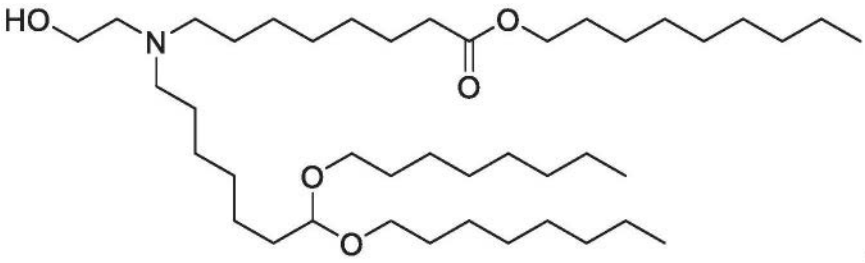
8A	
9A	
10A	
11A	
12A	
13A	

[0769]

14A	
15A	
16A	
17A	
18A	
19A	

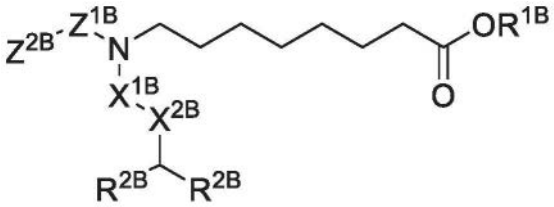
[0770] 或其盐,例如其药学上可接受的盐。

[0771] 在一些实施方案中,胺脂质为脂质D,其为8-((7,7-双(辛基氧基)庚基)(2-羟基乙基)氨基)辛酸壬基酯:

[0772]  或其盐。

[0773] 脂质D可根据WO2020072605和Mol.Ther.2018,26(6),1509-1519(“Sabnis”)来合成,所述文献通过引用整体并入。在一些实施方案中,胺脂质脂质D或WO2020072605中所提供的胺脂质,所述文献特此通过引用并入。

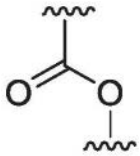
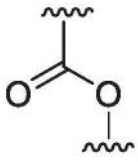
[0774] 在一些实施方案中,胺脂质为具有式IB结构的化合物:

[0775] 

(IB)

[0776] 其中

[0777] X^{1B}为C_{6-7}亚烷基;

[0778] X^{2B}为或不存在,条件是如果X^{2B}为则R^{2B}不为烷氧基;

[0779] Z^{1B}为C_{2-3}亚烷基;

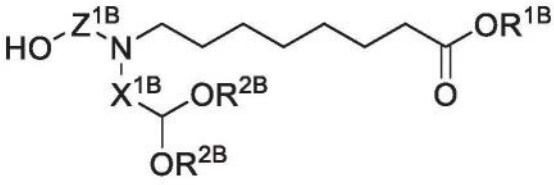
[0780] Z^{2B}选自-OH、-NHC(=O)OCH_3和-NHS(=O)$_2CH_3$;

[0781] R^{1B}为C_{7-9}无支链烷基;并且

[0782] 每个R^{2B}独立地为C_8烷基或C_8烷氧基;

[0783] 或其盐。

[0784] 在一些实施方案中,胺脂质为式(IIB)化合物

[0785] 

(IIB)

[0786] 其中

[0787] X^{1B}为C_{6-7}亚烷基;

[0788] Z^{1B}为C_{2-3}亚烷基;

[0789] R^{1B}为C_{7-9}无支链烷基;并且

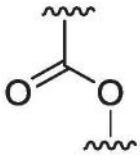
[0790] 每个R^{2B}为C_8烷基;

[0791] 或其盐。

[0792] 在某些实施方案中,X^{1B}为C_6亚烷基。在其他实施方案中,X^{1B}为C_7亚烷基。

[0793] 在某些实施方案中,Z^{1B}为直接键,并且R^{5B}和R^{6B}各自为C_8烷氧基。在其他实施方案

中，Z^{1B}为C_3亚烷基，并且R^{5B}和R^{6B}各自为C_6烷基。

[0794] 在某些实施方案中，X^{2B}为 并且R^{2B}不为烷氧基。在其他实施方案中，X^{2B}不存在。

[0795] 在某些实施方案中，Z^{1B}为C_2亚烷基；在其他实施方案中，Z^{1B}为C_3亚烷基。

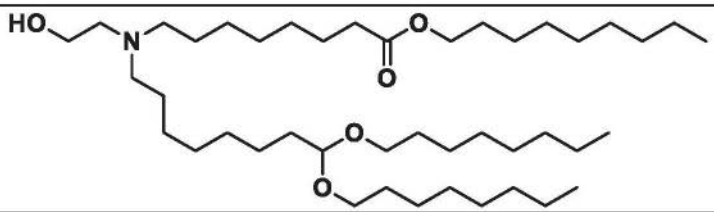
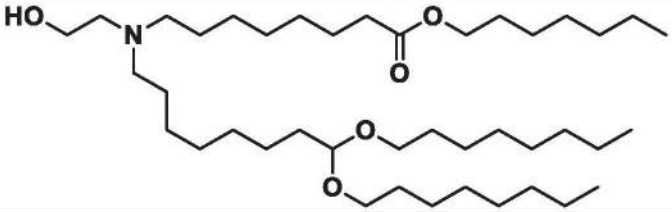
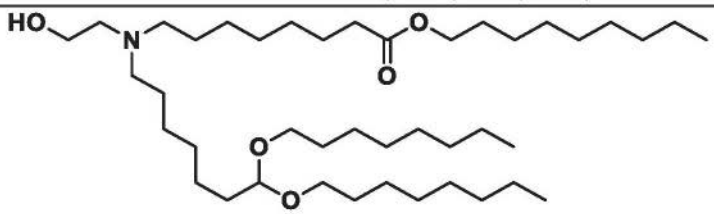
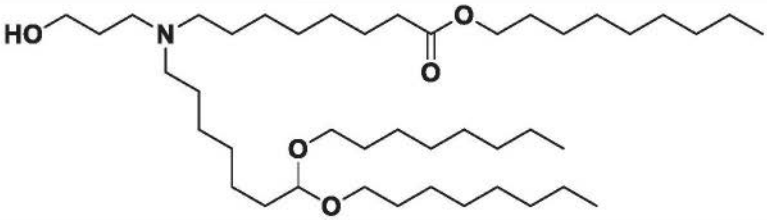
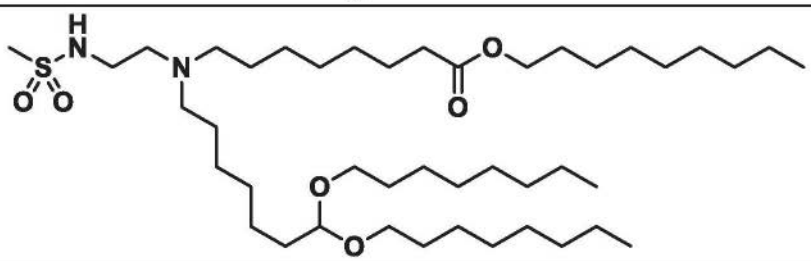
[0796] 在某些实施方案中，Z^{2B}为-OH。在其他实施方案中，Z^{2B}为-NHC(=O)OCH_3。在其他实施方案中，Z^{2B}为-NHS(=O)$_2CH_3$。

[0797] 在某些实施方案中，R^{1B}为C_7无支链亚烷基。在其他实施方案中，R^{1B}为C_8支链或无支链亚烷基。在其他实施方案中，R^{1B}为C_9支链或无支链亚烷基。

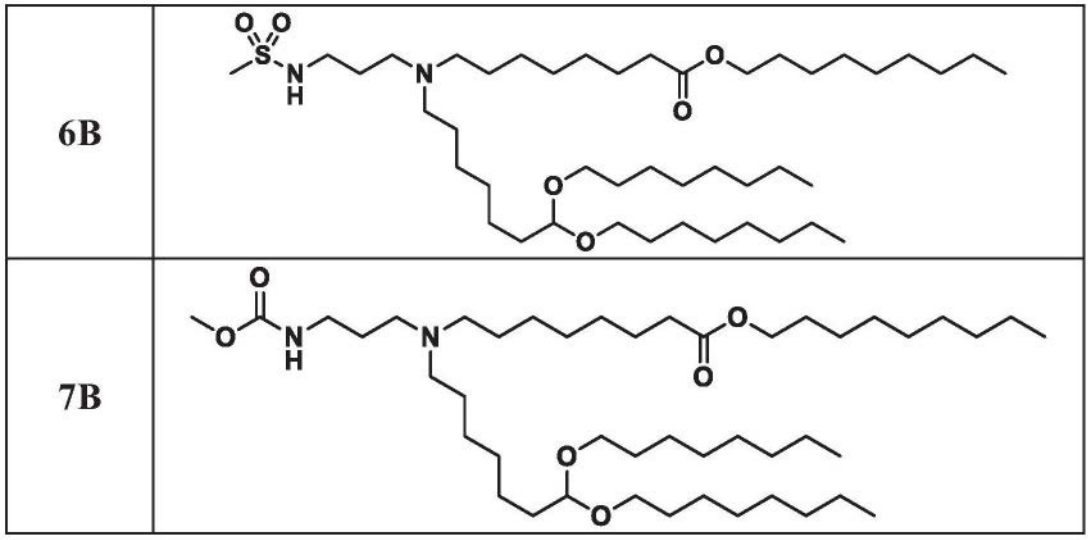
[0798] 在某些实施方案中，胺脂质为盐。

[0799] 代表性式(IB)化合物包括：

[0800]

化合物编号	化合物
1B	
2B	
3B	
4B	
5B	

[0801]



[0802] 或其盐,例如其药学上可接受的盐。

[0803] 适用于本文所阐述的脂质核酸组装体中的胺脂质和其他“生物可降解脂质”在体内或离体是生物可降解的。胺脂质具有低毒性(例如在大于或等于10mg/kg的量下,在动物模型中耐受并且无不良效应)。在一些实施方案中,包含胺脂质的脂质核酸组装体包括其中至少75%的胺脂质在8、10、12、24或48小时或3、4、5、6、7或10天内从血浆或工程化细胞中清除的那些脂质核酸组装体。在一些实施方案中,包含胺脂质的脂质核酸组装体包括其中至少50%的核酸(例如mRNA或gRNA)在8、10、12、24或48小时或3、4、5、6、7或10天内从血浆中清除的那些脂质核酸组装体。在一些实施方案中,包含胺脂质的脂质核酸组装体包括例如通过测量脂质(例如胺脂质)、核酸(例如RNA/mRNA)或其他组分,其中至少50%的脂质核酸组装体在8、10、12、24或48小时或3、4、5、6、7或10天内从血浆中清除的那些脂质核酸组装体。在一些实施方案中,测量脂质核酸组装体的脂质囊封组分与游离脂质、RNA或核酸组分。

[0804] 生物可降解脂质包括例如WO 2020/219876(例如第13-33页、第66-87页)、WO 2020/118041、WO 2020/072605(例如第5-12页、第21-29页、第61-68页)、WO 2019/067992、WO 2017/173054、WO 2015/095340和WO 2014/136086的生物可降解脂质,并且LNP包括其中所阐述的LNP组合物,其脂质和组成特此通过引用并入。

[0805] 脂质清除率可如文献中所阐述来测量。参见Maier,M.A.等人,Biodegradable Lipids Enabling Rapidly Eliminated Lipid Nanoparticles for Systemic Delivery of RNAi Therapeutics.Mol.Ther.2013,21(8),1570-78(“Maier”)。例如,在Maier中,经由侧尾静脉通过静脉内团注将含有荧光素酶靶向siRNA的LNP-siRNA系统以0.3mg/kg施用给六周龄至八周龄雄性C57Bl/6小鼠。在给药后0.083、0.25、0.5、1、2、4、8、24、48、96和168小时收集血液、肝脏和脾脏样品。在组织收集之前用盐水灌注小鼠,并且处理血液样品以获得血浆。所有样品都经处理并且通过LC-MS进行分析。此外,Maier描述在施用LNP-siRNA制剂后评估毒性的程序。例如,经由单次静脉内团注以5mL/kg的剂量体积将荧光素酶靶向siRNA以0、1、3、5和10mg/kg(5只动物/组)施用给雄性Sprague-Dawley大鼠。24小时后,从清醒动物的颈静脉中获得约1mL血液,并且分离出血清。在给药后72小时,将所有动物安乐死以进行尸检。实施临床征象、体重、血清化学、器官重量和组织病理学的评估。尽管Maier描述了用于评估siRNA-LNP制剂的方法,但这些方法可应用于评估施用本公开的LNP的清除率、药

物动力学和毒性。

[0806] 本领域中已知的用于核酸LNP递送的可电离和生物可利用脂质是适宜的。取决于脂质所处介质的pH,脂质可能为可电离的。例如,在微酸性介质中,脂质(如胺脂质)可经质子化,并且因此携带正电荷。相反,在微碱性介质(例如pH为大约7.35的血液)中,脂质(如胺脂质)可不经质子化,并且因此不携带电荷。

[0807] 脂质携带电荷的能力与其固有pKa有关。在一些实施方案中,本公开的胺脂质的pKa可各自独立地在约5.1至约7.4范围内。在一些实施方案中,本公开的生物可利用脂质的pKa可各自独立地在约5.1至约7.4范围内,例如约5.5至约6.6、约5.6至约6.4、约5.8至约6.2、或约5.8至约6.5。例如,本公开的胺脂质的pKa可各自独立地在约5.8至约6.5范围内。pKa范围在约5.1至约7.4内的脂质有效用于体内递送货品,例如递送至肝脏。此外,已发现,pKa范围在约5.3至约6.4内的脂质有效用于体内递送,例如递送至肿瘤。例如,参见WO2014/136086。

[0808] B.其他脂质

[0809] 适用于本公开的脂质组合物中的“中性脂质”包括例如多种中性、不带电或两性离子脂质。适用于本公开中的中性磷脂的实例包括(但不限于)5-十七烷基苯-1,3-二醇(间苯二酚)、二棕榈酰基磷脂酰胆碱(DPPC)、二硬脂酰基磷脂酰胆碱(DSPC)、磷酸胆碱(DOPC)、二肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱(DMPC)、磷脂酰胆碱(PLPC)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DAPC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、卵磷脂酰胆碱(EPC)、二月桂酰基磷脂酰胆碱(DLPC)、二肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱(DMPC)、1-肉豆蔻酰基-2-棕榈酰基磷脂酰胆碱(MPPC)、1-棕榈酰基-2-肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱(PMPC)、1-棕榈酰基-2-硬脂酰基磷脂酰胆碱(PSPC)、1,2-二花生酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DBPC)、1-硬脂酰基-2-棕榈酰基磷脂酰胆碱(SPPC)、1,2-二(二十烯酰基)-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DEPC)、棕榈酰基油酰磷脂酰胆碱(POPC)、溶血磷脂酰胆碱、二油酰基磷脂酰乙醇胺(DOPE)、二亚油酰基磷脂酰胆碱二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺(DSPE)、二肉豆蔻酰基磷脂酰乙醇胺(DMPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(DPPE)、棕榈酰基油酰磷脂酰乙醇胺(POPE)、溶血磷脂酰乙醇胺和其组合。在一个实施方案中,中性磷脂可选自由二硬脂酰基磷脂酰胆碱(DSPC)和二肉豆蔻酰基磷脂酰乙醇胺(DMPE)组成的组。在另一个实施方案中,中性磷脂可为二硬脂酰基磷脂酰胆碱(DSPC)。

[0810] “辅助脂质”包括类固醇、固醇和烷基间苯二酚。适用于本公开中的辅助脂质包括(但不限于)胆固醇、5-十七烷基间苯二酚和半琥珀酸胆固醇酯。在一个实施方案中,辅助脂质可为胆固醇。在一个实施方案中,辅助脂质可为半琥珀酸胆固醇酯。

[0811] “隐形脂质”是改变纳米颗粒可于体内(例如在血液中)存在的时间长度的脂质。隐形脂质可通过例如减少颗粒聚集和控制粒度而有助于配制工艺。本文所用的隐形脂质可调节脂质核酸组装体的药物动力学性质或有助于纳米颗粒离体稳定性。适用于本公开的脂质组合物中的隐形脂质包括(但不限于)具有连接至脂质部分的亲水性头基的隐形脂质。适用于本公开的脂质组合物中的隐形脂质和关于此类脂质的生物化学的信息可见于Romberg等人,Pharmaceutical Research,第25卷,第1期,2008,第55-71页和Hoekstra等人,Biochimica et Biophysica Acta 1660(2004)41-52。其他适宜PEG脂质公开于例如WO 2006/007712中。

[0812] 在一个实施方案中,隐形脂质的亲水性头基包含选自基于PEG的聚合物的聚合物

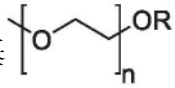
部分。隐形脂质可包含脂质部分。在一些实施方案中,隐形脂质为PEG脂质。

[0813] 在一个实施方案中,隐形脂质包含选自基于PEG(有时称为聚(环氧乙烷))、聚(噁唑啉)、聚(乙烯醇)、聚(甘油)、聚(N-乙烯吡咯烷酮)、聚氨基酸和聚[N-(2-羟基丙基)甲基丙烯酰胺]的聚合物的聚合物部分。

[0814] 在一个实施方案中,PEG脂质包含基于PEG(有时称为聚(环氧乙烷))的聚合物部分。

[0815] PEG脂质还包含脂质部分。在一些实施方案中,脂质部分可源自二酰基甘油或二酰基甘油酰胺,包括含有二烷基甘油或二烷基甘油酰胺基团的那些,所述基团具有独立地包含约C4至约C40饱和或不饱和碳原子的烷基链长度,其中所述链可包含一个或多个官能基,例如酰胺或酯。在一些实施方案中,烷基链长度包含约C10至C20。二烷基甘油或二烷基甘油酰胺基团还可包含一个或多个被取代的烷基。链长度可为对称或不对称。

[0816] 除非另有指示,否则如本文所用的术语“PEG”意指任何聚乙二醇或其他聚亚烷基醚聚合物。在一个实施方案中,PEG为乙二醇或环氧乙烷的任选地被取代的直链或支链聚合物。在一个实施方案中,PEG未被取代。在一个实施方案中,PEG被例如一个或多个烷基、烷氧基、酰基、羟基或芳基取代。在一个实施方案中,所述术语包括PEG共聚物,例如PEG-聚氨基甲酸酯或PEG-聚丙烯(例如,参见J.MiltonHarris,Poly(ethylene glycol)chemistry:biotechnical and biomedical applications(1992));在另一个实施方案中,所述术语不包括PEG共聚物。在一个实施方案中,PEG的分子量为约130至约50,000,在一个子实施方案中为约150至约30,000,在一个子实施方案中为约150至约20,000,在一个子实施方案中为约150至约15,000,在一个子实施方案中为约150至约10,000,在一个子实施方案中为约150至约6,000,在一个子实施方案中为约150至约5,000,在一个子实施方案中为约150至约4,000,在一个子实施方案中为约150至约3,000,在一个子实施方案中为约300至约3,000,在一个子实施方案中为约1,000至约3,000,并且在一个子实施方案中为约1,500至约2,500。

[0817] 在一些实施方案中,PEG(例如与脂质部分或脂质(如隐形脂质)缀合)是“PEG-2K”,也称为“PEG 2000”,其平均分子量为约2,000道尔顿。PEG-2K在本文中由下式(IV)表示,其中n为45,这意味着数量平均聚合度包含约45个亚基  (I) 然而,可使用本领域中已知的其他PEG实施方案,包括例如数量平均聚合度包含约23个亚基(n=23)或68个亚基(n=68)的那些。在一些实施方案中,n可在约30至约60范围内。在一些实施方案中,n可在约35至约55范围内。在一些实施方案中,n可在约40至约50范围内。在一些实施方案中,n可在约42至约48范围内。在一些实施方案中,n可为45。在一些实施方案中,R可选自H、被取代的烷基和未被取代的烷基。在一些实施方案中,R可为未被取代的烷基。在一些实施方案中,R可为甲基。

[0818] 在本文所阐述的任一实施方案中,PEG脂质可选自PEG-二月桂酰基甘油、PEG-二肉豆蔻酰基甘油(PEG-DMG目录号GM-020,来自NOF,Tokyo,Japan),例如1,2-二肉豆蔻酰基-外消旋-甘油-3-甲基聚氧乙二醇2000(PEG2k-DMG)、PEG-二棕榈酰基甘油、PEG-二硬脂酰基甘油(PEG-DSPE)(目录号DSPE-020CN,NOF,Tokyo,Japan)、PEG-二月桂基甘油酰胺、PEG-二肉豆蔻基甘油酰胺、PEG-二棕榈酰基甘油酰胺和PEG-二硬脂酰基甘油酰胺、PEG-胆固醇(1-[8′-(胆固-5-烯-3[β]-氧基)甲酰胺基-3′,6′-二氧杂辛烷基]氨甲酰基-[ω]-甲基-聚(乙

二醇)、PEG-DMB(3,4-双十四烷氧基苄基-[ω]-甲基-聚(乙二醇)醚)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(聚乙二醇)-2000](PEG2k-DMPE)(目录号880150P,来自Avanti Polar Lipids,Alabaster,Alabama,USA)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(聚乙二醇)-2000](PEG2k-DSPE)(目录号880120C,来自Avanti Polar Lipids,Alabaster,Alabama,USA)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油、甲氧基聚乙二醇(PEG2k-DSG;GS-020,NOF Tokyo,Japan)、聚(乙二醇)-2000-二甲基丙烯酸酯(PEG2k-DMA)和1,2-二硬脂基氧基丙基-3-胺-N-[甲氧基(聚乙二醇)-2000](PEG2k-DSA)。在一个实施方案中,PEG脂质可为1,2-二肉豆蔻酰基-外消旋-甘油-3-甲基聚氧乙二醇2000。在一个实施方案中,PEG脂质可为PEG2k-DMG。在一些实施方案中,PEG脂质可为PEG2k-DSG。在一个实施方案中,PEG脂质可为PEG2k-DSPE。在一个实施方案中,PEG脂质可为PEG2k-DMA。在一个实施方案中,PEG脂质可为PEG2k-C-DMA。在一个实施方案中,PEG脂质可为WO2016/010840(段落[00240]至[00244])中所公开的化合物S027。在一个实施方案中,PEG脂质可为PEG2k-DSA。在一个实施方案中,PEG脂质可为PEG2k-C11。在一些实施方案中,PEG脂质可为PEG2k-C14。在一些实施方案中,PEG脂质可为PEG2k-C16。在一些实施方案中,PEG脂质可为PEG2k-C18。

[0819] C.脂质纳米颗粒(LNP)

[0820] LNP可含有(i)生物可降解的脂质,(ii)任选的中性脂质,(iii)辅助脂质,和(iv)隐形脂质,如PEG脂质。脂质核酸组装体可含有生物可降解的脂质以及中性脂质、辅助脂质和隐形脂质(如PEG脂质)中的一者或多者。

[0821] 脂质核酸组装体可含有(i)用于囊封和用于胞内体逃逸的胺脂质,(ii)用于稳定化的中性脂质,(iii)也用于稳定化的辅助脂质,和(iv)隐形脂质,如PEG脂质。脂质核酸组装体可含有胺脂质和中性脂质、辅助脂质(也用于稳定化)以及隐形脂质(如PEG脂质)中的一者或多者。

[0822] LNP可包含核酸(例如RNA),即包括RNA引导的DNA结合剂、Cas核酸酶mRNA、2类Cas核酸酶mRNA、Cas9 mRNA和gRNA中的一者或多者的组分。在一些实施方案中,LNP可包括2类Cas核酸酶和作为RNA组分的gRNA。在一些实施方案中,LNP可包含RNA组分、胺脂质、辅助脂质、中性脂质和隐形脂质。在某些LNP中,辅助脂质为胆固醇。在其他组合物中,中性脂质为DSPC。在其他实施方案中,隐形脂质为PEG2k-DMG或PEG2k-C11。在一些实施方案中,LNP包含脂质A或脂质A的等效形式;辅助脂质;中性脂质;隐形脂质;和RNA,如gRNA。在一些实施方案中,LNP包含脂质A或脂质A的等效形式;辅助脂质;隐形脂质;和RNA,如gRNA。在一些组合物中,胺脂质为脂质A。在一些组合物中,胺脂质为脂质A或其缩醛类似物;辅助脂质为胆固醇;中性脂质为DSPC;并且隐形脂质为PEG2k-DMG。

[0823] 在一些实施方案中,根据制剂中组分脂质的相应摩尔比来描述脂质组合物。本公开的实施方案提供了根据制剂中组分脂质的相应摩尔比描述的脂质组合物。在一个实施方案中,胺脂质的mol%可为约30mol%至约60mol%。在一个实施方案中,胺脂质的mol%可为约40mol%至约60mol%。在一个实施方案中,胺脂质的mol%可为约45mol%至约60mol%。在一个实施方案中,胺脂质的mol%可为约50mol%至约60mol%。在一个实施方案中,胺脂质的mol%可为约55mol%至约60mol%。在一个实施方案中,胺脂质的mol%可为约50mol%至约55mol%。在一个实施方案中,胺脂质的mol%可为约50mol%。在一个实施方案中,胺脂质的mol%可为约55mol%。在一些实施方案中,脂质核酸组装体批料的胺脂质mol%将为目

标mol％的±30％、±25％、±20％、±15％、±10％、±5％或±2.5％。在一些实施方案中，脂质核酸组装体批料的胺脂质mol％将为目标mol％的±4mol％、±3mol％、±2mol％、±1.5mol％、±1mol％、±0.5mol％或±0.25mol％。所有mol％数都作为LNP的脂质组分的分数给出。在一些实施方案中，胺脂质mol％的脂质核酸组装体批间可变性将小于15％、小于10％或小于5％。

[0824] 在一个实施方案中，中性脂质的mol％可为约5mol％至约15mol％。在一个实施方案中，中性脂质的mol％可为约7mol％至约12mol％。在一个实施方案中，中性脂质的mol％可为约9mol％。在一些实施方案中，脂质核酸组装体批料的中性脂质mol％将为目标中性脂质mol％的±30％、±25％、±20％、±15％、±10％、±5％或±2.5％。在一些实施方案中，脂质核酸组装体批间可变性将小于15％、小于10％或小于5％。

[0825] 在一个实施方案中，辅助脂质的mol％可为约20mol％至约60mol％。在一个实施方案中，辅助脂质的mol％可为约25mol％至约55mol％。在一个实施方案中，辅助脂质的mol％可为约25mol％至约50mol％。在一个实施方案中，辅助脂质的mol％可为约25mol％至约40mol％。在一个实施方案中，辅助脂质的mol％可为约30mol％至约50mol％。在一个实施方案中，辅助脂质的mol％可为约30mol％至约40mol％。在一个实施方案中，基于胺脂质、中性脂质和PEG脂质浓度调整辅助脂质的mol％，以使脂质组分达到100mol％。在一些实施方案中，脂质核酸组装体批料的辅助mol％将为目标mol％的±30％、±25％、±20％、±15％、±10％、±5％或±2.5％。在一些实施方案中，脂质核酸组装体批间可变性将小于15％、小于10％或小于5％。

[0826] 在一个实施方案中，PEG脂质的mol％可为约1mol％至约10mol％。在一个实施方案中，PEG脂质的mol％可为约2mol％至约10mol％。在一个实施方案中，PEG脂质的mol％可为约1mol％至约3mol％。在一个实施方案中，PEG脂质的mol％可为约2mol％至约4mol％。在一个实施方案中，PEG脂质的mol％可为约1.5mol％至约2mol％。在一个实施方案中，PEG脂质的mol％可为约2.5mol％至约4mol％。在一个实施方案中，PEG脂质的mol％可为约3mol％。在一个实施方案中，PEG脂质的mol％可为约2.5mol％。在一个实施方案中，PEG脂质的mol％可为约2mol％。在一个实施方案中，PEG脂质的mol％可为约1.5mol％。在一些实施方案中，脂质核酸组装体批料的PEG脂质mol％将为目标PEG脂质mol％的±30％、±25％、±20％、±15％、±10％、±5％或±2.5％。在一些实施方案中，LNP(例如LNP组合物)批间可变性将小于15％、小于10％或小于5％。

[0827] 本公开的实施方案提供了LNP组合物，例如包含可电离脂质(例如脂质A或其类似物中的一者)、辅助脂质、辅助脂质和PEG脂质的LNP组合物，其是根据制剂中组分脂质的相应摩尔比进行描述。在某些实施方案中，可电离脂质的量为约25mol％至约45mol％；中性脂质的量为约10mol％至约30mol％；辅助脂质的量为约25mol％至约65mol％；并且PEG脂质的量为约1.5mol％至约3.5mol％。在某些实施方案中，可电离脂质的量为脂质组分的约29-44mol％；中性脂质的量为脂质组分的约11-28mol％；辅助脂质的量为脂质组分的约28-55mol％；并且PEG脂质的量为脂质组分的约2.3-3.5mol％。在某些实施方案中，可电离脂质的量为脂质组分的约29-38mol％；中性脂质的量为脂质组分的约11-20mol％；辅助脂质的量为脂质组分的约43-55mol％；并且PEG脂质的量为脂质组分的约2.3-2.7mol％。在某些实施方案中，可电离脂质的量为脂质组分的约25-34mol％；中性脂质的量为脂质组分的约10-

20mol％;辅助脂质的量为脂质组分的约45-65mol％;并且PEG脂质的量为脂质组分的约2.5-3.5mol％。在某些实施方案中,可电离脂质为脂质组分的约30-43mol％;中性脂质的量为脂质组分的约10-17mol％;辅助脂质的量为脂质组分的约43.5-56mol％;并且PEG脂质的量为脂质组分的约1.5-3mol％。在某些实施方案中,可电离脂质为脂质组分的约33mol％;中性脂质的量为脂质组分的约15mol％;辅助脂质的量为脂质组分的约49mol％;并且PEG脂质的量为脂质组分的约3mol％。在某些实施方案中,可电离脂质的量为脂质组分的约32.9mol％;中性脂质的量为脂质组分的约15.2mol％;辅助脂质的量为脂质组分的约49.2mol％;并且PEG脂质的量为脂质组分的约2.7mol％。

[0828] 在某些实施方案中,可电离脂质(例如脂质A或其类似物中的一者)的量为约20-50mol％、约25-34mol％、约25-38mol％、约25-45mol％、约29-38mol％、约29-43mol％、约29-34mol％、约30-34mol％、约30-38mol％、约30-43mol％、约30-43mol％或约33mol％。在某些实施方案中,中性脂质的量为约10-30mol％、约11-30mol％、约11-20mol％、约13-17mol％或约15mol％。在某些实施方案中,辅助脂质的量为约35-50mol％、约35-65mol％、约35-55mol％、约38-50mol％、约38-55mol％、约38-65mol％、约40-50mol％、约40-65mol％、约43-65mol％、约43-55mol％或约49mol％。在某些实施方案中,PEG脂质的量为约1.5-3.5mol％、约2.0-2.7mol％、约2.0-3.5mol％、约2.3-3.5mol％、约2.3-2.7mol％、约2.5-3.5mol％、约2.5-2.7mol％、约2.9-3.5mol％或约2.7mol％。

[0829] 本公开的其他实施方案提供了LNP组合物,例如包含可电离脂质(例如脂质D或其类似物中的一者)、辅助脂质、辅助脂质和PEG脂质的LNP组合物,其是根据制剂中组分脂质的相应摩尔比进行描述。在某些实施方案中,可电离脂质的量为约25mol％至约50mol％;中性脂质的量为约7mol％至约25mol％;辅助脂质的量为约39mol％至约65mol％;并且PEG脂质的量为约0.5mol％至约1.8mol％。在某些实施方案中,可电离脂质的量为脂质组分的约27-40mol％;中性脂质的量为脂质组分的约10-20mol％;辅助脂质的量为脂质组分的约50-60mol％;并且PEG脂质的量为脂质组分的约0.9-1.6mol％。在某些实施方案中,可电离脂质的量为脂质组分的约30-45mol％;中性脂质的量为脂质组分的约10-15mol％;辅助脂质的量为脂质组分的约39-59mol％;并且PEG脂质的量为脂质组分的约1-1.5mol％。在某些实施方案中,可电离脂质的量为脂质组分的约30-45mol％;中性脂质的量为脂质组分的约10-15mol％;辅助脂质的量为脂质组分的约39-59mol％;并且PEG脂质的量为脂质组分的约1-1.5mol％。在某些实施方案中,可电离脂质为脂质组分的约30mol％;中性脂质的量为脂质组分的约10mol％;辅助脂质的量为脂质组分的约59mol％;并且PEG脂质的量为脂质组分的约1-1.5mol％。在某些实施方案中,可电离脂质的量为脂质组分的约40mol％;中性脂质的量为脂质组分的约15mol％;辅助脂质的量为脂质组分的约43.5mol％;并且PEG脂质的量为脂质组分的约1.5mol％。在某些实施方案中,可电离脂质的量为脂质组分的约50mol％;中性脂质的量为脂质组分的约10mol％;辅助脂质的量为脂质组分的约39mol％;并且PEG脂质的量为脂质组分的约1mol％。

[0830] 在某些实施方案中,可电离脂质(例如脂质D或其类似物之一)的量为约20-55mol％、约20-45mol％、约20-40mol％、约27-40mol％、约27-45mol％、约27-55mol％、约30-40mol％、约30-45mol％、约30-55mol％、约30mol％、约40mol％或约50mol％。在某些实施方案中,中性脂质的量为约7-25mol％、约10-25mol％、约10-20mol％、约15-20mol％、约

8-15mol％、约10-15mol％、约10mol％或约15mol％。在某些实施方案中,辅助脂质的量为约39-65mol％、约39-59mol％、约40-60mol％、约40-65mol％、约40-59mol％、约43-65mol％、约43-60mol％、约43-59mol％、或约50-65mol％、约50-59mol％、约59mol％或约43.5mol％。在某些实施方案中,PEG脂质的量为约0.5-1.8mol％、约0.8-1.6mol％、约0.8-1.5mol％、0.9-1.8mol％、约0.9-1.6mol％、约0.9-1.5mol％、1-1.8mol％、约1-1.6mol％、约1-1.5mol％、约1mol％或约1.5mol％。

[0831] 在一些实施方案中,货品包括编码RNA引导的DNA结合剂(例如Cas核酸酶、2类Cas核酸酶或Cas9)的mRNA,或gRNA或编码gRNA的核酸,或mRNA与gRNA的组合。在一个实施方案中,LNP可包含脂质A或其等效形式,或如WO2020219876中所提供的胺脂质;或脂质D或WO2020/072605中所提供的胺脂质。在一些方面,胺脂质为脂质A或脂质D。在一些方面,胺脂质为脂质A等效形式,例如脂质A的类似物,或WO2020/219876中所提供的胺脂质。在某些方面,胺脂质为脂质A的缩醛类似物,任选地为WO2020/219876中所提供的胺脂质。在一些方面,胺脂质为脂质D或W2020072605中所发现的胺脂质。在各个实施方案中,LNP包含胺脂质、中性脂质、辅助脂质和PEG脂质。在一些实施方案中,辅助脂质为胆固醇。在一些实施方案中,中性脂质为DSPC。在具体实施方案中,PEG脂质为PEG2k-DMG。在一些实施方案中,LNP可包含脂质A、辅助脂质、中性脂质和PEG脂质。在一些实施方案中,LNP包含胺脂质、DSPC、胆固醇和PEG脂质。在一些实施方案中,LNP包含含有DMG的PEG脂质。在一些实施方案中,胺脂质选自脂质A和脂质A的等效形式,包括脂质A的缩醛类似物,或WO2020/219876中所提供的胺脂质;或脂质D或WO2020/072605中所提供的胺脂质。在其他实施方案中,LNP包含脂质A、胆固醇、DSPC和PEG2k-DMG。在其他实施方案中,LNP包含脂质D、胆固醇、DSPC和PEG2k-DMG。

[0832] 本公开的实施方案也提供了根据胺脂质的带正电荷的胺基团(N)与待囊封核酸的带负电荷的磷酸酯基团(P)之间的摩尔比描述的脂质组合物。这可在数学上通过等式N/P来表示。在一些实施方案中,LNP可包含含有胺脂质、辅助脂质、中性脂质和辅助脂质的脂质组分;和核酸组分,其中N/P比为约3至10。在一些实施方案中,LNP包含约4.5、5.0、5.5、6.0或6.5的胺脂质对RNA/DNA磷酸酯摩尔比(N:P)。在一些实施方案中,LNP可包含含有胺脂质、辅助脂质、中性脂质和辅助脂质的脂质组分;和RNA组分,其中N/P比为约3至10。在一个实施方案中,N/P比可为约5-7。在一个实施方案中,N/P比可为约4.5-8。在一个实施方案中,N/P比可为约6。在一个实施方案中,N/P比可为6±1。在一个实施方案中,N/P比可为约6±0.5。在一些实施方案中,N/P比将为目标N/P比的±30％、±25％、±20％、±15％、±10％、±5％或±2.5％。在一些实施方案中,脂质核酸组装体批间可变性将小于15％、小于10％或小于5％。

[0833] 在一些实施方案中,脂质核酸组装体包含RNA组分,其可包含mRNA,例如编码Cas核酸酶的mRNA。在一个实施方案中,RNA组分可包含Cas9 mRNA。在包含编码Cas核酸酶的mRNA的一些组合物中,脂质核酸组装体还包含gRNA核酸,如gRNA。在一些实施方案中,RNA组分包含Cas核酸酶mRNA和gRNA。在一些实施方案中,RNA组分包含2类Cas核酸酶mRNA和gRNA。

[0834] 在一些实施方案中,LNP可包含编码Cas核酸酶(如2类Cas核酸酶)的mRNA、胺脂质、辅助脂质、中性脂质和PEG脂质。在包含编码Cas核酸酶(如2类Cas核酸酶)的mRNA的某些LNP中,辅助脂质为胆固醇。在包含编码Cas核酸酶(如2类Cas核酸酶)的mRNA的其他组合物中,中性脂质为DSPC。在包含编码Cas核酸酶(如2类Cas核酸酶)的mRNA的其他实施方案中,PEG

脂质为PEG2k-DMG或PEG2k-C11。在包含编码Cas核酸酶(如2类Cas核酸酶)的mRNA的特定组合物中,胺脂质选自脂质A和其等效形式,例如脂质A的缩醛类似物,或WO2020/219876中所提供的胺脂质;或脂质D和WO2020/072605中所提供的胺脂质。

[0835] 在一些实施方案中,LNP可包含gRNA。在一些实施方案中,LNP可包含胺脂质、gRNA、辅助脂质、中性脂质和PEG脂质。在包含gRNA的某些LNP中,辅助脂质为胆固醇。在包含gRNA的一些组合物中,中性脂质为DSPC。在包含gRNA的其他实施方案中,PEG脂质为PEG2k-DMG或PEG2k-C11。在一些实施方案中,胺脂质选自脂质A和其等效形式,例如脂质A的缩醛类似物,或WO2020/219876中所提供的胺脂质和其等效形式;或脂质D和WO2020/072605中所提供的胺脂质和其等效形式。

[0836] 在一个实施方案中,LNP可包含sgRNA。在一个实施方案中,LNP可包含Cas9 sgRNA。在一个实施方案中,LNP可包含Cpf1 sgRNA。在包含sgRNA的一些组合物中,脂质核酸组装体包括胺脂质、辅助脂质、中性脂质和PEG脂质。在包含sgRNA的某些组合物中,辅助脂质为胆固醇。在包含sgRNA的其他组合物中,中性脂质为DSPC。在包含sgRNA的其他实施方案中,PEG脂质为PEG2k-DMG或PEG2k-C11。在一些实施方案中,胺脂质选自脂质A和其等效形式,例如脂质A的缩醛类似物,或WO2020/219876中所提供的胺脂质;或脂质D和WO2020/072605中所提供的胺脂质。

[0837] 在一些实施方案中,LNP包含编码Cas核酸酶的mRNA和可为sgRNA的gRNA。在一个实施方案中,LNP可包含胺脂质、编码Cas核酸酶的mRNA、gRNA、辅助脂质、中性脂质和PEG脂质。在包含编码Cas核酸酶的mRNA和gRNA的某些组合物中,辅助脂质为胆固醇。在包含编码Cas核酸酶的mRNA和gRNA的一些组合物中,中性脂质为DSPC。在包含编码Cas核酸酶的mRNA和gRNA的其他实施方案中,PEG脂质为PEG2k-DMG或PEG2k-C11。在一些实施方案中,胺脂质选自脂质A和其等效形式,例如脂质A的缩醛类似物,或WO2020/219876中所提供的胺脂质;或脂质D和WO2020/072605中所提供的胺脂质。

[0838] 在一些实施方案中,LNP包括Cas核酸酶mRNA(如2类Cas mRNA)和至少一种gRNA。在一些实施方案中,LNP包括约25:1至约1:25wt/wt的gRNA对Cas核酸酶mRNA(如2类Cas核酸酶mRNA)比率。在一些实施方案中,脂质核酸组装体制剂包括约10:1至约1:10的gRNA对Cas核酸酶mRNA(如2类Cas核酸酶mRNA)比率。在一些实施方案中,脂质核酸组装体制剂包括约8:1至约1:8的gRNA对Cas核酸酶mRNA(如2类Cas核酸酶mRNA)比率。如本文所测量,比率是以重量计。在一些实施方案中,脂质核酸组装体制剂包括约5:1至约1:5的gRNA对Cas核酸酶mRNA(如2类Cas mRNA)比率。在一些实施方案中,比率范围为约3:1至1:3、约2:1至1:2、约5:1至1:2、约5:1至1:1、约3:1至1:2、约3:1至1:1、约3:1、约2:1至1:1。在一些实施方案中,gRNA对mRNA比率为约3:1或约2:1。在一些实施方案中,gRNA对Cas核酸酶mRNA(如2类Cas核酸酶)的比率为约1:1。在一些实施方案中,gRNA对Cas核酸酶mRNA(如2类Cas核酸酶)的比率为约1:2。比率可为约25:1、10:1、5:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:5、1:10或1:25。

[0839] 本文所公开的LNP可包括模板核酸。模板核酸可与编码Cas核酸酶的mRNA(如2类Cas核酸酶mRNA)一起共配制。在一些实施方案中,模板核酸可与向导RNA一起共配制。在一些实施方案中,模板核酸可与编码Cas核酸酶的mRNA和向导RNA二者一起共配制。在一些实施方案中,模板核酸可与编码Cas核酸酶的mRNA或向导RNA分开配制。模板核酸可与LNP一起递送或分开递送。在一些实施方案中,模板核酸可为单链或双链,取决于所期望的修复机

制。模板可具有与靶DNA或与毗邻靶DNA的序列同源的区域。

[0840] 在一些实施方案中,通过将RNA水溶液与基于有机溶剂的脂质溶液(例如100%乙醇)混合来形成脂质核酸组装体。适宜溶液或溶剂包括或可含有:水、PBS、Tris缓冲液、NaCl、柠檬酸盐缓冲液、乙醇、氯仿、二乙醚、环己烷、四氢呋喃、甲醇、异丙醇。可使用例如用于体内施用脂质核酸组装体的药学上可接受的缓冲液。在一些实施方案中,使用缓冲液将包含脂质核酸组装体的组合物的pH维持在处于或高于pH 6.5。在一些实施方案中,使用缓冲液将包含脂质核酸组装体的组合物的pH维持在处于或高于pH 7.0。在一些实施方案中,组合物的pH在约7.2至约7.7范围内。在其他实施方案中,组合物的pH在约7.3至约7.7范围内或在约7.4至约7.6范围内。在其他实施方案中,组合物的pH为约7.2、7.3、7.4、7.5、7.6或7.7。可利用微型pH探针测量组合物的pH。在一些实施方案中,将低温保护剂包括在组合物中。低温保护剂的非限制性实例包括蔗糖、海藻糖、甘油、DMSO和乙二醇。示例性组合物可包括高达10%的低温保护剂,例如蔗糖。在一些实施方案中,LNP可包括约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%的低温保护剂。在一些实施方案中,LNP可包括约1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%的蔗糖。在一些实施方案中,LNP可包括缓冲液。在一些实施方案中,缓冲液可包含磷酸盐缓冲液(PBS)、Tris缓冲液、柠檬酸盐缓冲液和其混合物。在一些示例性实施方案中,缓冲液包含NaCl。在一些实施方案中,省略NaCl。NaCl的示例性量可在约20mM至约45mM范围内。NaCl的示例性量可在约40mM至约50mM范围内。在一些实施方案中,NaCl的量为约45mM。在一些实施方案中,缓冲液为Tris缓冲液。Tris的示例性量可在约20mM至约60mM范围内。Tris的示例性量可在约40mM至约60mM范围内。在一些实施方案中,Tris的量为约50mM。在一些实施方案中,缓冲液包含NaCl和Tris。LNP的某些示例性实施方案含有于Tris缓冲液中的5%蔗糖和45mM NaCl。在其他示例性实施方案中,组合物含有约5%w/v的量的蔗糖、约45mMNaCl和约50mM Tris,pH 7.5。盐、缓冲液和低温保护剂的量可变化,使得维持整体制剂的渗透压。例如,最终渗透压可维持在小于450mOsm/L。在其他实施方案中,渗透压介于350mOsm/L与250mOsm/L之间。某些实施方案的最终渗透压为300+/-20mOsm/L。

[0841] 在一些实施方案中,使用微流体混合、T-混合或交叉混合。在某些方面,流速、接头大小、接头几何结构、接头形状、管径、溶液或RNA和脂质浓度可变化。可例如经由透析、切向流过滤或色谱法来浓缩或纯化脂质核酸组装体或LNP。脂质核酸组装体可例如储存为悬浮液、乳液或冻干粉末。在一些实施方案中,将LNP储存在2℃-8℃下,在某些方面,将LNP储存在室温下。在其他实施方案中,将LNP冷冻储存在例如-20℃或-80℃下。在其他实施方案中,将LNP储存在范围为约0℃至约-80℃的温度下。可使冷冻LNP在使用之前解冻,例如在冰上、在4℃下、在室温下或在25℃下。可将冷冻LNP维持在各种温度下,例如在冰上、在4℃下、在室温下、在25℃下或在37℃下。

[0842] 在一些实施方案中,LNP组合物中的LNP浓度为约1-10ug/mL、约2-10ug/mL、约2.5-10ug/mL、约1-5ug/mL、约2-5ug/mL、约2.5-5ug/mL、约0.04ug/mL、约0.08ug/mL、约0.16ug/mL、约0.25ug/mL、约0.63ug/mL、约1.25ug/mL、约2.5ug/mL或约5ug/mL。

[0843] 在一些实施方案中,LNP包含隐形脂质,任选地其中:

[0844] (i)LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约50-60mol%胺脂质如脂质A或脂质D;约8-10mol%中性脂质;和约2.5-4mol%隐形脂质(例如PEG脂质),其中所述脂质组分

的其余部分为辅助脂质,并且其中所述LNP的N/P比为约6;

[0845] (ii) LNP包含约50-60mol％胺脂质如脂质A或脂质D;约27-39.5mol％辅助脂质;约8-10mol％中性脂质;和约2.5-4mol％隐形脂质(例如PEG脂质),其中所述LNP的N/P比为约5-7(例如约6);

[0846] (iii)LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约50-60mol％胺脂质如脂质A或脂质D;约5-15mol％中性脂质;和约2.5-4mol％隐形脂质(例如PEG脂质),其中所述脂质组分的其余部分为辅助脂质,并且其中所述LNP的N/P比为约3-10;

[0847] (iv)LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约40-60mol％胺脂质如脂质A或脂质D;约5-15mol％中性脂质;和约2.5-4mol％隐形脂质(例如PEG脂质),其中所述脂质组分的其余部分为辅助脂质,并且其中所述LNP的N/P比为约6;

[0848] (v)LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约50-60mol％胺脂质如脂质A或脂质D;约5-15mol％中性脂质;和约1.5-10mol％隐形脂质(例如PEG脂质),其中所述脂质组分的其余部分为辅助脂质,并且其中所述LNP的N/P比为约6;

[0849] (vi)LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约40-60mol％胺脂质如脂质A或脂质D;约0-10mol％中性脂质;和约1.5-10mol％隐形脂质(例如PEG脂质),其中所述脂质组分的其余部分为辅助脂质,并且其中所述LNP的N/P比为约3-10;

[0850] (vii) LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约40-60mol％胺脂质如脂质A或脂质D;少于约1mol％的中性脂质;和约1.5-10mol％隐形脂质(例如PEG脂质),其中所述脂质组分的其余部分为辅助脂质,并且其中所述LNP的N/P比为约3-10;

[0851] (viii)LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约40-60mol％胺脂质如脂质A或脂质D;和约1.5-10mol％隐形脂质(例如PEG脂质),其中所述脂质组分的其余部分为辅助脂质,其中LNP组合物的N/P比为约3-10,并且其中所述LNP基本上不含或不含中性磷脂;或

[0852] (ix)LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约50-60mol％胺脂质如脂质A或脂质D;约8-10mol％中性脂质;和约2.5-4mol％隐形脂质(例如PEG脂质),其中所述脂质组分的其余部分为辅助脂质,并且其中所述LNP的N/P比为约3-7。

[0853] 在一些实施方案中,LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约50mol％胺脂质如脂质A或脂质D;约9mol％中性脂质如DSPC;约3mol％隐形脂质如PEG脂质,如PEG2k-DMG,并且所述脂质组分的其余部分为辅助脂质如胆固醇,其中所述LNP的N/P比为约6。

[0854] 在一些实施方案中,LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约50mol％脂质A;约9mol％DSPC;约3mol％的PEG2k-DMG,并且所述脂质组分的其余部分为胆固醇,其中所述LNP的N/P比为约6。

[0855] 在一些实施方案中,LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约35mol％脂质A;约15mol％中性脂质;约47.5mol％辅助脂质;和约2.5mol％隐形脂质(例如PEG脂质),并且其中LNP组合物的N/P比为约3-7。

[0856] 在一些实施方案中,LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约35mol％脂质D;约15mol％中性脂质;约47.5mol％辅助脂质;和约2.5mol％隐形脂质(例如PEG脂质),并且其中LNP组合物的N/P比为约3-7。

[0857] 在一些实施方案中,LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约25-45mol％胺脂质,如脂质A;约10-30mol％中性脂质;约25-65mol％辅助脂质;和约1.5-3.5mol％隐形脂质

(例如PEG脂质),并且其中LNP组合物的N/P比为约3-7。

[0858] 在一些实施方案中,LNP包含脂质组分,其中:

[0859] a.胺脂质的量为脂质组分的约29-44mol%;中性脂质的量为脂质组分的约11-28mol%;辅助脂质的量为脂质组分的约28-55mol%;并且PEG脂质的量为脂质组分的约2.3-3.5mol%

[0860] b.胺脂质的量为脂质组分的约29-38mol%;中性脂质的量为脂质组分的约11-20mol%;辅助脂质的量为脂质组分的约43-55mol%;并且PEG脂质的量为脂质组分的约2.3-2.7mol%;

[0861] c.胺脂质的量为脂质组分的约25-34mol%;中性脂质的量为脂质组分的约10-20mol%;辅助脂质的量为脂质组分的约45-65mol%;并且PEG脂质的量为脂质组分的约2.5-3.5mol%;或

[0862] d.胺脂质的量为脂质组分的约30-43mol%;中性脂质的量为脂质组分的约10-17mol%;辅助脂质的量为脂质组分的约43.5-56mol%;并且PEG脂质的量为脂质组分的约1.5-3mol%。

[0863] 在一些实施方案中,LNP包含脂质组分并且所述脂质组分包含:约25-50mol%胺脂质,如脂质D;约7-25mol%中性脂质;约39-65mol%辅助脂质;和约0.5-1.8mol%隐形脂质(例如PEG脂质),并且其中LNP组合物的N/P比为约3-7。

[0864] 在一些实施方案中,LNP包含脂质组分,其中胺脂质的量为脂质组分的约30-45mol%;或脂质组分的约30-40mol%;任选地脂质组分的约30mol%、40mol%或50mol%。在一些实施方案中,LNP包含脂质组分,其中中性脂质的量为脂质组分的约10-20mol%;或脂质组分的约10-15mol%;任选地脂质组分的约10mol%或15mol%。在一些实施方案中,LNP包含脂质组分,其中辅助脂质的量为脂质组分的约50-60mol%;脂质组分的约39-59mol%;或脂质组分的约43.5-59mol%;任选地脂质组分的约59mol%;脂质组分的约43.5mol%;或脂质组分的约39mol%。在一些实施方案中,LNP包含脂质组分,其中PEG脂质的量为脂质组分的约0.9-1.6mol%;或脂质组分的约1-1.5mol%;任选地脂质组分的约1mol%或脂质组分的约1.5mol%

[0865] 在一些实施方案中,LNP包含脂质组分,其中:

[0866] a.可电离脂质的量为脂质组分的约27-40mol%;中性脂质的量为脂质组分的约10-20mol%;辅助脂质的量为脂质组分的约50-60mol%;并且PEG脂质的量为脂质组分的约0.9-1.6mol%;

[0867] b.可电离脂质的量为脂质组分的约30-45mol%;中性脂质的量为脂质组分的约10-15mol%;辅助脂质的量为脂质组分的约39-59mol%;并且PEG脂质的量为脂质组分的约1-1.5mol%;

[0868] c.可电离脂质的量为脂质组分的约30mol%;中性脂质的量为脂质组分的约10mol%;辅助脂质的量为脂质组分的约59mol%;并且PEG脂质的量为脂质组分的约1-1.5mol%;

[0869] d.可电离脂质的量为脂质组分的约40mol%;中性脂质的量为脂质组分的约15mol%;辅助脂质的量为脂质组分的约43.5mol%;并且PEG脂质的量为脂质组分的约1.5mol%;或

[0870] e.可电离脂质的量为脂质组分的约50mol％;中性脂质的量为脂质组分的约10mol％;辅助脂质的量为脂质组分的约39mol％;并且PEG脂质的量为脂质组分的约1mol％。

[0871] 在一些实施方案中,LNP的直径为约1-250nm、10-200nm、约20-150nm、约50-150nm、约50-100nm、约50-120nm、约60-100nm、约75-150nm、约75-120nm或约75-100nm。在一些实施方案中,LNP的直径小于100nm。在一些实施方案中,LNP组合物包含平均直径为约10-200nm、约20-150nm、约50-150nm、约50-100nm、约50-120nm、约60-100nm、约75-150nm、约75-120nm或约75-100nm的LNP群体。在一些实施方案中,LNP的平均直径小于100 nm。

[0872] 在一些实施方案中,LNP包含:约40-60mol％胺脂质;约5-15mol％中性脂质;和约1.5-10mol％PEG脂质,其中脂质组分的其余部分为辅助脂质,并且其中LNP组合物的N/P比为约3-10。在一些实施方案中,LNP包含:约50-60mol％胺脂质;约8-10mol％中性脂质;和约2.5-4mol％PEG脂质,其中脂质组分的其余部分为辅助脂质,并且其中LNP组合物的N/P比为约3-8。在一些实施方案中,LNP包含:约50-60mol％胺脂质;约5-15mol％DSPC;和约2.5-4mol％PEG脂质,其中脂质组分的其余部分为胆固醇,并且其中LNP组合物的N/P比为3-8±0.2。

[0873] 在实施方案中,平均直径为Z-平均直径。在某些实施方案中,使用本领域中已知的方法,通过动态光散射(DLS)测量Z-平均直径。例如,可使用Malvem Zetasizer DLS仪器,通过动态光散射(DLS)测量平均粒度和多分散性。在通过DLS进行测量之前,将LNP样品用PBS缓冲液稀释。可测定Z-平均直径和数量平均直径以及多分散性指数(pdi)。Z平均值为颗粒集合的强度加权平均流体动力学大小。数量平均值为颗粒集合的颗粒数加权平均流体动力学大小。也可使用Malvem Zetasizer仪器使用本领域中已知的方法来测量LNP的ζ电位。

[0874] D.LNP中组分的排列

[0875] 在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具或至少一种gRNA含于至少一种LNP中。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器,(iii)第三LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iv)第四LNP,其包含第二gRNA,(v)第五LNP,其包含第三gRNA,和(vi)第六LNP,其包含第四gRNA。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器,(iii)第三LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iv)第四LNP,其包含第二gRNA和第三gRNA,和(v)第五LNP,其包含第四gRNA。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iii)第三LNP,其包含第二gRNA,(iv)第四LNP,其包含第三gRNA,和(v)第五LNP,其包含第四gRNA。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iii)第三LNP,其包含第二gRNA和第三gRNA,和(iv)第四LNP,其包含第四gRNA。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、

第二基因组编辑工具和gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器,(iii)第三LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iv)第四LNP,其包含第二gRNA、第三gRNA和第四gRNA。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iii)第三LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含第二gRNA,(iv)第四LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含第三gRNA,和(v)第五LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含第四gRNA。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于以下中:(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含第二基因组编辑器和第一gRNA,(ii)第二LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),(iii)第三LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含第二gRNA和第三gRNA,和(iv)第四LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含第四gRNA。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于第一至第四LNP、第一至第五LNP或第一至第六LNP中,以及包含第五gRNA的一种或多种额外LNP中。在一些实施方案中,所述一种或多种额外LNP还包含第六gRNA。在一些实施方案中,所述一种或多种额外LNP还包含第七gRNA。在一些实施方案中,所述一种或多种额外LNP还包含第八gRNA。在一些实施方案中,所述一种或多种额外LNP还包含第九gRNA。在一些实施方案中,所述一种或多种额外LNP还包含第十gRNA。

[0876] 在一些实施方案中,第二基因组编辑器包含酿脓链球菌(Spy)Cas9裂解酶,第一基因组编辑器或碱基编辑器包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)Cas9切口酶,第一gRNA靶向TRAC基因座,第二gRNA靶向HLA-A基因座,第三gRNA靶向CIITA基因座,第四gRNA靶向HLA-B基因座,第五gRNA靶向TRBC基因座并且一种或多种额外gRNA各自靶向不同于所述TRAC基因座、所述HLA-A基因座、所述HLA-B基因座、所述CIITA基因座和所述TRBC基因座的基因座。

[0877] 在一些实施方案中,第二基因组编辑器包含酿脓链球菌(Spy)Cas9裂解酶,第一基因组编辑器或碱基编辑器包含脑膜炎奈瑟菌(Nme)Cas9切口酶,第一gRNA靶向TRAC基因座,第二gRNA靶向HLA-A基因座,第三gRNA靶向CIITA基因座,并且第四gRNA靶向HLA-B基因座,并且一种或多种额外gRNA各自靶向不同于所述TRAC基因座、所述HLA-A基因座、所述HLA-B基因座和所述CIITA基因座的基因座。

[0878] 在一些实施方案中,第一gRNA包含SEQ ID NO:374或378的序列或与SEQ ID NO:374或378至少95%、90%或85%同一的序列,其中第二gRNA包含SEQ ID NO:366或370的序列或与SEQ ID NO:366或370至少95%、90%或85%同一的序列,其中第三gRNA包含SEQ ID NO:345或384的序列或与SEQ ID NO:345或384至少95%、90%或85%同一的序列,并且其中第四gRNA包含SEQ ID NO:363的序列或与SEQ ID NO:363至少95%、90%或85%同一的序列。

[0879] 在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于至少2、3、4、5、6、7、8、9或10种各自包含不同核酸组分的不同的脂质纳米颗粒(LNP)中。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于4、5、6或7种各自包含不同核酸组分的不同的脂质纳米颗粒(LNP)中。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于4种各自包含不同核酸组分的不同LNP中。在一

些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于5种各自包含不同核酸组分的不同LNP中。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于6种各自包含不同核酸组分的不同LNP中。在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于7种各自包含不同核酸组分的不同LNP中。

[0880] 在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA和所述至少一种与第二基因组编辑器同源的gRNA共同地包含至少2种gRNA,并且其中靶向不同基因组基因座的2种gRNA含于同一脂质纳米颗粒(LNP)中。在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA和所述至少一种与第二基因组编辑器同源的gRNA共同地包含至少3种gRNA,并且其中靶向不同基因组基因座的3种gRNA含于同一脂质纳米颗粒中。在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA和所述至少一种与第二基因组编辑器同源的gRNA共同地包含至少4种gRNA,并且其中靶向不同基因组基因座的4种gRNA含于同一脂质纳米颗粒中。

[0881] 在一些实施方案中,其他gRNA中的每一者含于不同的LNP中。在一些实施方案中,所述gRNA中的每一者含于不同的LNP中。

[0882] 在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含多于一种靶向不同基因组基因座的gRNA,并且所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器与所述多于一种gRNA中的至少一种含于同一LNP中。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器和所述gRNA中的一者含于同一LNP中。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器和所述gRNA中的2者含于同一LNP中。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器和所述gRNA中的3者含于同一LNP中。在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器和所述gRNA中的4者含于同一LNP中。

[0883] 在一些实施方案中,所述第一基因组编辑器或所述碱基编辑器含于与所述至少一种同第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA中的每一者不同的LNP中。

[0884] 在一些实施方案中,所述至少一种与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的gRNA包含多于一种靶向不同基因组基因座的gRNA,并且所述多于一种gRNA中的每一者含于不同的LNP中。

[0885] 在一些实施方案中,包含与第一基因组编辑器或碱基编辑器同源的所述gRNA中的一者的LNP各自还包含第一基因组编辑器或碱基编辑器。

[0886] 在一些实施方案中,第二基因组编辑器和所述至少一种与所述第二基因组编辑器同源的gRNA含于同一LNP中。在一些实施方案中,第二基因组编辑器与所述gRNA中的一者含于同一LNP中。

[0887] 在一些实施方案中,第一基因组编辑工具包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI),并且所述UGI含于与所述gRNA中的每一者不同的LNP中。

[0888] 在一些实施方案中,LNP包含第一组不同的LNP和第二组不同的LNP,以及任选地第三组不同的LNP。在一些实施方案中,第一组不同的LNP包含2、3、4或5种LNP,第二组不同的LNP包含2、3、4或5种LNP,并且第三组不同的LNP在存在时包含2、3、4或5种LNP。在一些实施方案中,第一组不同的LNP包含3或4种LNP,第二组不同的LNP包含3或4种LNP。在一些实施方案中,第一组不同的LNP、第二组不同的LNP和第三组不同的LNP(在存在时)依序递送至细

胞。在一些实施方案中,第二组不同的LNP是在第一组不同的LNP递送至细胞后1、2或3天递送至细胞,并且其中第三组不同的LNP(在存在时)是在第二组不同的LNP递送至细胞后1、2或3天递送至细胞。

[0889] 在一些实施方案中,第一基因组编辑工具、第二基因组编辑工具和gRNA共同含于以下中:(a)(i)第一脂质纳米颗粒(LNP),其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI);(ii)第二LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含第二gRNA;(iii)第三LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含第三gRNA;和(iv)第四LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含第四gRNA;和(b)(i)第五LNP,其包含尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI);(ii)第六LNP,其包含第二基因组编辑器和第一gRNA;(iii)编码用于插入在第一gRNA的编辑位点处的外源基因的核酸;(iv)任选地第七LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含第五gRNA;(v)任选地第八LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含第六gRNA;(vi)任选地第九LNP,其包含第一基因组编辑器或碱基编辑器并且包含第七gRNA。

[0890] E.使细胞与LNP接触

[0891] 在一些实施方案中,LNP在接触细胞之前用血清因子预处理。在一些实施方案中,LNP在接触细胞之前用灵长类动物血清因子预处理。在一些实施方案中,LNP在接触细胞之前用人类血清因子预处理。在一些实施方案中,LNP在接触细胞之前用ApoE预处理。在一些实施方案中,LNP在接触细胞之前用重组ApoE3或ApoE4预处理。在一些实施方案中,细胞在接触LNP之前是血清饥饿的。

[0892] 在一些实施方案中,多重方法包括将血清因子和LNP预温育约30秒至过夜。在一些实施方案中,预温育步骤包括将血清因子和LNP预温育约1分钟至1小时。在一些实施方案中,其包括预温育约1-30分钟。在其他实施方案中,其包括预温育约1-10

[0893] 在一些实施方案中,依序施用LNP组合物。在一些实施方案中,同时施用LNP组合物。在一些实施方案中,使细胞群体与2-12种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体与2-8种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体与2-6种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体与3-8种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体与3-6种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体与4-6种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体与6-12种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体与3种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体与4种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体与6种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体与3种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体同时与LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体同时与不超过6种LNP组合物接触。在一些实施方案中,使细胞群体同时与不超过2种LNP组合物接触。

[0894] 在一些实施方案中,在依序接触或编辑步骤之间使细胞冷冻。

[0895] 在一些实施方案中,LNP在接触细胞之前用血清因子预处理。在一些实施方案中,LNP在接触细胞之前用人类血清预处理。在一些实施方案中,LNP用血清替代物(例如市售血清替代物)预处理,优选地其中血清替代物适于离体使用。在一些实施方案中,LNP在接触细胞之前用ApoE预处理。在一些实施方案中,LNP在接触细胞之前用重组ApoE3或ApoE4预处理。在一些实施方案中,细胞在接触LNP之前是血清饥饿的。

[0896] 在一些实施方案中,多重方法包括将血清因子和LNP预温育约30秒至过夜。在一些实施方案中,预温育步骤包括将血清因子和LNP预温育约1分钟至1小时。在一些实施方案

中,其包括预温育约1-30分钟。在其他实施方案中,其包括预温育约1-10分钟。其他实施方案包括预温育约5分钟。

[0897] 在一些实施方案中,预温育步骤在约4℃下进行。在一些实施方案中,预温育步骤在约25℃下进行。在一些实施方案中,预温育步骤在约37℃下进行。预温育步骤可包含缓冲剂,如碳酸氢钠或HEPES。

[0898] 在一些实施方案中,向“非活化”的细胞提供LNP。“非活化”的细胞是指未在体外受到刺激的细胞。在一些实施方案中,“非活化”的T细胞在体内时可能已受到体内刺激(例如通过抗原),然而如果所述细胞在体外培养中未受到刺激,则所述细胞在本文中可称为非活化的。“活化”细胞也可用于本文所公开的方法中,并且可指在体外受到刺激的细胞。本文提供了用于体外活化细胞的剂,并且所述剂是本领域中已知的,特别是用于活化T细胞或B细胞的剂。

[0899] 在一些实施方案中,在与LNP接触之前,在培养基中培养T细胞。在一些实施方案中,使T细胞与一种或多种增殖性细胞因子(例如IL-2、IL-15、IL-7和IL-21中的一者或多者或全部)或一种或多种经由CD3或CD28提供活化的剂一起培养。

[0900] 在一些实施方案中,使T细胞在与LNP接触之前活化,在与LNP接触之间活化,或在与LNP接触之后活化。

[0901] 在一些实施方案中,细胞为T细胞,并且所述方法在第一接触步骤与第二接触步骤之间还包括活化步骤。在一些实施方案中,使非活化的T细胞与一种、两种或三种核酸组装体组合物接触。在一些实施方案中,使活化的T细胞与1至8种LNP、任选地1至4种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与至少6种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与不超过12种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与2-12种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与2-8种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与2-6种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与3-8种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与3-6种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与4-6种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与4-12种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与4-8种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与6-12种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞与3、4、5或6种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞同时与不超过8种LNP接触。在一些实施方案中,使T细胞同时与不超过6种LNP接触。在一些实施方案中,使活化的T细胞与至少6种LNP接触。在一些实施方案中,使活化的T细胞与不超过12种LNP接触。在一些实施方案中,使活化的T细胞与2-12种LNP接触。在一些实施方案中,使活化的T细胞与4-12种LNP接触。在一些实施方案中,使活化的T细胞与4-8种LNP接触。在一些实施方案中,使活化的T细胞同时与不超过8种LNP接触。在一些实施方案中,使活化的T细胞同时与不超过6种LNP接触。

[0902] VIII.其他示例性实施方案

[0903] 尽管结合所阐释的实施方案来阐述本发明,但应理解,所述实施方案并不旨在将本发明限于那些实施方案。相反,本发明旨在涵盖如所附权利要求所限定的可包括在本发明内的所有替代方案、修改和等效形式,包括具体特征的等效形式。

[0904] 前述一般说明和详细说明二者以及以下实施例仅为示例性和解释性的,并且并不限制教导内容。本文所用的章节标题仅用于组织目的,而不应解释为以任何方式限制期望主题。倘若通过引用并入的任何文献与本说明书中所定义的任何术语冲突,则以本说明书为准。除非另有说明,否则本申请中所给出的所有范围都涵盖端点。

[0905] IX.实施例

[0906] 实施例1.材料和方法

[0907] 实施例1.1.下一代测序(“NGS”)和在靶裂解效率分析。

[0908] 使用QuickExtract™ DNA提取溶液(Lucigen,目录号QE09050),根据制造商的方案提取基因组DNA。

[0909] 为定量地测定基因组中靶位置的编辑效率,利用深度测序来鉴别通过基因编辑引入的插入、缺失和取代的存在。在所关注基因(例如HLA-A)内的靶位点附近设计PCR引物,并且扩增所关注的基因组区域。按照本领域中的标准进行引物序列设计。

[0910] 根据制造商的方案(Illumina)实施额外PCR,以添加用于测序的化学物质。在IlluminaMiSeq仪器上对扩增子进行测序。在消除质量评分较低的读段之后,将读段与人类参考基因组(例如hg38)进行比对。将与所关注靶区重叠的读段与局部基因组序列进行重新比对,以改进比对。接着计算野生型读段的数量与含有C至T突变、C至A/G突变或插入/缺失的读段的数量。在以所预测的Cas9裂解位点为中心的20bp区域中对插入和缺失进行评分。插入/缺失百分比定义为在20bp评分区域内插入或缺失一个或多个碱基的测序读段总数除以测序读段总数,包括野生型。在40bp区域中对C至T突变或C至A/G突变进行评分,所述区域包括所述20bp sgRNA靶序列的上游10bp和下游10 bp。C至T编辑百分比定义为在40bp区域内具有一个或多个C至T突变的测序读段总数除以测序读段总数,包括野生型。类似地计算C至A/G突变的百分比。

[0911] 实施例1.2.脂质纳米颗粒的制备。

[0912] 将脂质组分以各种摩尔比溶解于100%乙醇中。将RNA货品(例如Cas9 mRNA和sgRNA)溶解于25mM柠檬酸盐缓冲液、100mM NaCl,pH 5.0中,使得RNA货品的浓度为大约0.45mg/mL。

[0913] 脂质核酸组装体含有下文实施例中所列示的摩尔比的可电离脂质A十八-9,12-二烯酸((9Z,12Z)-3-((4,4-双(辛基氧基)丁酰基)氧基)-2-((((3-(二乙基氨基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基酯(也称为((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯酸3-((4,4-双(辛基氧基)丁酰基)氧基)-2-((((3-(二乙基氨基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙基酯)、胆固醇、DSPC和PEG2k-DMG。以脂质胺对RNA磷酸酯(N:P)的摩尔比为约6并且gRNA对mRNA的重量比为1:1或1:2来配制脂质核酸组装体。

[0914] 使用交叉流技术,利用将乙醇中的脂质与两体积的RNA溶液和一体积的水进行碰撞射流混合来制备脂质纳米颗粒(LNP组合物)。乙醇中的脂质经由十字混合器与两体积的RNA溶液混合。第四水流经由线内T形管与十字混合器的出口流混合(参见WO2016010840,图2)。将LNP组合物在室温(RT)下保持1小时,并且用水(大约1:1v/v)进一步稀释。使用切向流过滤在平板盒(Sartorius,100kD MWCO)上浓缩LNP组合物,并且使用PD-10脱盐柱(GE)缓冲液交换至50mM Tris、45mMNaCl、5%(w/v)蔗糖,pH 7.5(TSS)中。或者,任选地使用100kDa Amicon旋转过滤器浓缩LNP,并且使用PD-10脱盐柱(GE)缓冲液交换至TSS中。接着使用0.2μm无菌过滤器过滤所得混合物。将最终LNP储存在4℃或-80℃下,直至进一步使用。

[0915] 实施例1.3.mRNA的体外转录(“IVT”)

[0916] 通过体外转录使用线性化质粒DNA模板和T7 RNA聚合酶来生成含有N1-甲基假U的加帽和多聚腺苷酸化mRNA。通过使含有T7启动子、转录序列和多聚腺苷酸化序列的质粒DNA

在以下条件下与XbaI一起在37℃下温育2小时使其线性化:200ng/μL质粒、2U/μL XbaI(NEB)和1x反应缓冲液。通过将反应物在65℃下加热20分钟使XbaI失活。从酶和缓冲液盐中纯化线性化质粒。通过在37℃下在以下条件中温育1.5-4小时来实施IVT反应以生成经修饰的mRNA:50ng/μL线性化质粒;GTP、ATP、CTP和N1-甲基假UTP(Trilink),各自2-5mM;10-25mM ARCA(Trilink);5U/μL T7 RNA聚合酶(NEB);1U/μL鼠类RNA酶抑制剂(NEB);0.004U/μL无机大肠杆菌焦磷酸酶(NEB);和1x反应缓冲液。添加TURBO DNA酶(ThermoFisher)至最终浓度为0.01U/μL,并且使反应物再温育30分钟以去除DNA模板。根据制造商的方案,使用MegaClear转录清理试剂盒(ThermoFisher)或RNeasy Maxi试剂盒(Qiagen)纯化mRNA。或者,经由沉淀方案纯化mRNA,在一些情形中,其后为基于HPLC的纯化。简而言之,在DNA酶消化后,使用LiCl沉淀、乙酸铵沉淀和乙酸钠沉淀纯化mRNA。对于HPLC纯化的mRNA,在LiCl沉淀和重构后,通过RP-IP HPLC纯化mRNA(例如,参见Kariko等人,Nucleic Acids Research,2011,第39卷,第21期e142)。合并选择用于汇集的级分,并且如上文所阐述通过乙酸钠/乙醇沉淀来脱盐。在另一个替代方法中,用LiCl沉淀法纯化mRNA,之后通过切向流过滤进一步纯化。通过测量260nm下的吸光度(Nanodrop)测定RNA浓度,并且通过Bioanlayzer(Agilent)的毛细管电泳对转录本进行分析。

[0917] 从编码根据SEQ ID NO:307(参见序列表中的序列)的开放阅读框的质粒DNA生成酿脓链球菌(“Spy”)Cas9mRNA。从编码根据SEQ ID NO:306的开放阅读框的质粒DNA生成SpBC22n mRNA。从编码根据SEQ ID NO:309的开放阅读框的质粒DNA生成UGI mRNA。从编码根据SEQ ID NO:305的开放阅读框的质粒DNA生成脑膜炎双球菌(Nme2)Cas9mRNA。从编码根据SEQ ID NO:308的开放阅读框的质粒DNA生成Nme2BC22nmRNA。关于RNA,应理解,T应经U置换(其为如上文所阐述的N1-甲基假尿苷)。实施例中使用的信使RNA包括5′帽和3′多聚腺苷酸化区,例如长达100nt,并且例如在序列表中的SEQ ID NO:147中进行阐述。向导RNA是通过本领域中已知的方法来化学合成。

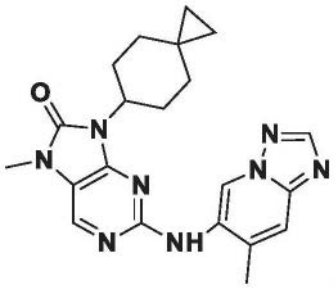
[0918] 实施例2.使用电穿孔的一锅式方法

[0919] 在P3缓冲液中制备含有编码SpBC22n(SEQ ID NO:306)和UGI(SEQ ID NO:309)或Nme2BC22n(SEQ ID NO:308)和UGI(SEQ ID NO:309)的相应mRNA混合物的溶液,其中含有或不含Spy Cas9(SEQ ID NO:307)或Nme2 Cas9(SEQ ID NO:305)mRNA。本研究中所用的每个向导最初在95℃下热变性2分钟,之后在室温下温育5分钟并在冰上冷却。以商业方式获得健康人类供体血球分离(Hemacare)。遵循制造商的说明,使用EasySep人类T细胞分离试剂盒(Stemcell Technology,目录号17951),通过负选择分离T细胞。将T细胞冷冻保存于Cryostor CS10冷冻培养基(Stemcell,目录号07930)中以供将来使用。在本研究开始时(第0天),将冷冻保存的T细胞解冻并在1x细胞因子T细胞生长培养基中培养过夜,所述生长培养基由CTS OpTmizer SFM(Gibco,A3705001)与IL-15(5ng/mL)、IL-7(5ng/mL)和IL-2(200U/mL)组成。第二天,经由Transact(Miltenyi,目录号130-111-160)使T细胞活化。

[0920] 活化后48小时,收获T细胞,离心,并重悬于P3电穿孔缓冲液(Lonza)中。对于每个待电穿孔的孔,如表6和表7中所指示,将$1x10^5$个T细胞与试剂混合。在指示的情形下,样品接受160ng编码Cas9或碱基编辑器(BE)的mRNA、160ng编码UGI的mRNA和2uM每一sgRNA,其最终体积为20μL P3电穿孔缓冲液。使用制造商的脉冲编码,对此混合物进行电穿孔。使电穿孔的T细胞立即在不含细胞因子的T细胞基础培养基中静置10分钟,之后洗涤并重悬于100μ

L含有IL15(5ng/mL)、IL7(5ng/mL)和IL2(200U/mL)并且含有0.5uM化合物1的T细胞基础培养基中。

[0921] 化合物1是DNA依赖性蛋白激酶的小分子抑制剂。所述抑制剂为9-(4,4-二氟环己基)-7-甲基-2-((7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮,也绘示为:

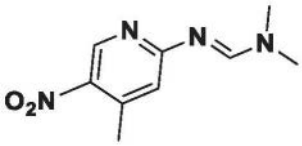
[0922] 。

[0923] 如下制备DNAPKI化合物1:

[0924] 一般信息

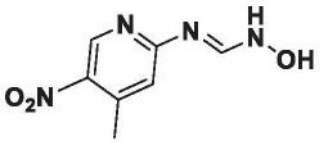
[0925] 所有试剂和溶剂都是从商业供应商购得并且按接收状态使用,或根据所引用的程序合成。所有中间体和最终化合物都使用快速柱色谱法在硅胶上进行纯化。在Bruker或Varian 400MHz光谱仪上记录NMR光谱,并且在环境温度下在CDCl3中收集NMR数据。化学位移以相对于CDCl3(7.26)的百万分率(ppm)报告。1H NMR的数据报告如下:化学位移,多重性(br=宽峰,s=单峰,d=双重峰,t=三重峰,q=四重峰,dd=双二重峰,dt=双三重峰,m=多重峰),偶合常数和积分。在具有电喷雾电离(ESI)源的Waters SQD2质谱仪上记录MS数据。通过UPLC-MS-ELS,使用配备有SQD2质谱仪的Waters AcquityH-Class液相色谱法仪测定最终化合物的纯度,所述质谱仪带有光电二极管阵列(PDA)和蒸发光散射(ELS)检测器。

[0926] 中间体1a:(E)-N,N-二甲基-N′-(4-甲基-5-硝基吡啶-2-基)甲脒

[0927] 

[0928] 向4-甲基-5-硝基-吡啶-2-胺(5g,1.0当量)于甲苯(0.3M)中的溶液中添加DMF-DMA(3.0当量)。将混合物在110℃下搅拌2h。将反应混合物在减压下浓缩,得到残余物并通过柱色谱法进行纯化,得到呈黄色固体的产物(59%)。^{1}H NMR(400MHz,$(CD_3)_2SO$)δ8.82(s,1H),8.63(s,1H),6.74(s,1H),3.21(m,6H)。

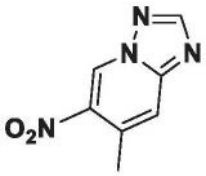
[0929] 中间体1b:(E)-N-羟基-N′-(4-甲基-5-硝基吡啶-2-基)甲脒

[0930] 

[0931] 向中间体1a(4g,1.0当量)于MeOH(0.2M)中的溶液中添加$NH_2OH \cdot HCl$(2.0当量)。将反应混合物在80℃下搅拌1h。过滤反应混合物,并且将滤液在减压下浓缩,得到残余物。使残余物在H_2O与EtOAc之间分配,之后用EtOAc萃取2次。将有机相在减压下浓缩,得到残余物并通过柱色谱法进行纯化,得到呈白色固体的产物(66%)。1H NMR(400MHz,$(CD_3)_2SO$)δ10.52(d,J=3.8Hz,1H),10.08(dd,J=9.9,3.7Hz,1H),8.84(d,J=3.8Hz,1H),7.85(dd,J

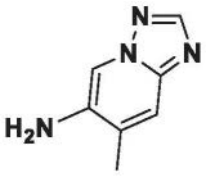
=9.7,3.8Hz,1H),7.01(d,J=3.9Hz,1H),3.36(s,3H)。

[0932] 中间体1c:7-甲基-6-硝基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶

[0933] 

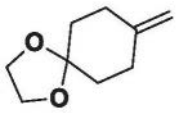
[0934] 在0℃下向中间体1b(2.5g,1.0当量)于THF(0.4M)中的溶液中添加三氟乙酸酐(1.0当量)。将混合物在25℃下搅拌18h。过滤反应混合物,并且将滤液在减压下浓缩,得到残余物。通过柱色谱法纯化残余物,得到呈白色固体的产物(44%)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ9.53(s,1H),8.49(s,1H),7.69(s,1H),2.78(d,J=1.0Hz,3H)。

[0935] 中间体1d:7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺

[0936] 

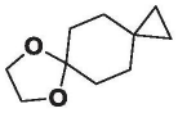
[0937] 向Pd/C(10%w/w,0.2当量)于EtOH(0.1M)中的混合物中添加中间体1c(1.0当量)和甲酸铵(5.0当量)。将混合物在105℃下加热2h。过滤反应混合物,并且将滤液在减压下浓缩,得到残余物。通过柱色谱法纯化残余物,得到呈浅褐色固体的产物。^{1}H NMR(400MHz,$(CD_3)_2SO$)δ8.41(s,2H),8.07(d,J=9.0Hz,2H),7.43(s,1H),2.22(s,3H)。

[0938] 中间体1e:8-亚甲基-1,4-二氧杂螺[4.5]癸烷

[0939] 

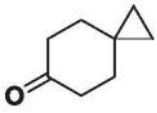
[0940] 在-78℃下向甲基(三苯基)溴化鏻(1.15当量)于THF(0.6M)中的溶液中滴加n-BuLi(1.1当量),并且将混合物在0℃下搅拌1h。接着,将1,4-二氧杂螺[4.5]癸-8-酮(50g,1.0当量)添加至反应混合物中。将混合物在25℃下搅拌12h。在0℃下将反应混合物倒入NH_4Cl水溶液中,用H_2O稀释,并用EtOAc萃取3次。将合并的有机层在减压下浓缩,得到残余物并通过柱色谱法进行纯化,得到呈无色油状物的产物(51%)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ4.67(s,1H),3.96(s,4H),2.82(t,J=6.4Hz,4H),1.70(t,J=6.4Hz,4H)。

[0941] 中间体1f:7,10-二氧杂二螺[2.2.4^6.2^3]十二烷

[0942] 

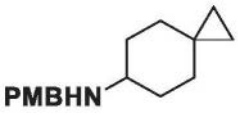
[0943] 在-40℃下向中间体4a(5g,1.0当量)于甲苯(3M)中的溶液中滴加$ZnEt_2$(2.57当量),并且将混合物在-40℃下搅拌1h。接着在-40℃下在N_2下向混合物中滴加二碘甲烷(6.0当量)。接着将混合物在N_2气氛下在20℃下搅拌17h。在0℃下将反应混合物倒入NH_4Cl水溶液中,并用EtOAc萃取2次。将合并的有机相用盐水(20mL)洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并且将滤液在真空中浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,得到呈浅黄色油状物的产物(73%)。

[0944] 中间体1g:螺[2.5]辛-6-酮

[0945] 

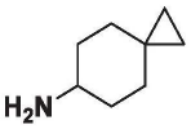
[0946] 向中间体4b(4g,1.0当量)于1:1THF/H_2O(1.0 M)中的溶液中添加TFA(3.0当量)。将混合物在N_2气氛下在20℃下搅拌2h。将反应混合物在减压下浓缩以去除THF,并且利用2M NaOH(水溶液)将残余物调整至pH 7。将混合物倒入水中并用EtOAc萃取3次。将合并的有机相用盐水洗涤,经无水Na_2SO_4干燥,过滤并且将滤液在真空中浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,得到呈浅黄色油状物的产物(68%)。′H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ2.35(t,J=6.6Hz,4H),1.62(t,J=6.6Hz,4H),0.42(s,4H)。

[0947] 中间体1h:N-(4-甲氧基苄基)螺[2.5]辛-6-胺

[0948] 

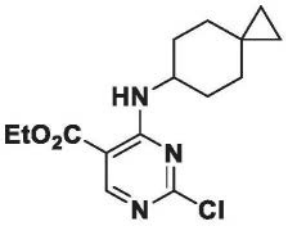
[0949] 向中间体4c(2g,1.0当量)和(4-甲氧基苯基)甲胺(1.1当量)于DCM(0.3M)中的混合物中添加AcOH(1.3当量)。将混合物在N_2气氛下在20℃下搅拌1h。接着,在0℃下向混合物中添加$NaBH(OAc)_3$(3.3当量),并且将混合物在N_2气氛下在20℃下搅拌17h。将反应混合物在减压下浓缩以去除DCM,并且用H_2O稀释所得残余物并用EtOAc萃取3次。将合并的有机层用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并且将滤液在减压下浓缩,得到残余物。通过柱色谱法纯化残余物,得到呈灰色固体的产物(51%)。^{1}H NMR(400MHz,$(CD_3)_2SO$)δ7.15-7.07(m,2H),6.77-6.68(m,2H),3.58(s,3H),3.54(s,2H),2.30(ddt,J=10.1,7.3,3.7Hz,1H),1.69-1.62(m,2H),1.37(td,J=12.6,3.5Hz,2H),1.12-1.02(m,2H),0.87-0.78(m,2H),0.13-0.04(m,2H)。

[0950] 中间体1i:螺[2.5]辛-6-胺

[0951] 

[0952] 向Pd/C(10%w/w,1.0当量)于MeOH(0.25M)中的悬浮液中添加中间体4d(2g,1.0当量),并且将混合物在H_2气氛下在80℃和50Psi下搅拌24h。过滤反应混合物,并且将滤液在减压下浓缩,得到残余物,通过柱色谱法纯化所述残余物,得到呈白色固体的产物。^{1}H NMR(400MHz,$(CD_3)_2SO$)δ2.61(tt,J=10.8,3.9Hz,1H),1.63(ddd,J=9.6,5.1,2.2Hz,2H),1.47(td,J=12.8,3.5Hz,2H),1.21-1.06(m,2H),0.82-0.72(m,2H),0.14-0.05(m,2H)。

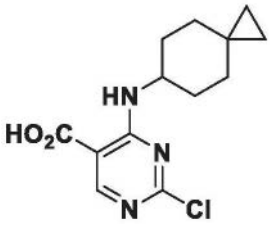
[0953] 中间体1j:2-氯-4-(螺[2.5]辛-6-基氨基)嘧啶-5-甲酸乙基酯

[0954] 

[0955] 在N_2下向2,4-二氯嘧啶-5-甲酸乙基酯(2.7g,1.0当量)和中间体1i(1.0当量)于ACN(0.5-0.6M)中的混合物中一次性添加K_2CO_3(2.5当量)。将混合物在20℃下搅拌12h。过滤反应混合物,并且将滤液在减压下浓缩,得到残余物。通过柱色谱法纯化残余物,得到呈白

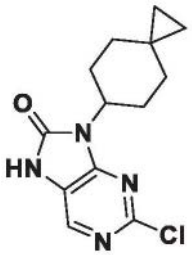
色固体的产物(54%)。^{1}H NMR(400MHz,$(CD_3)_2SO$)δ8.64(s,1H),8.41(d,J=7.9Hz,1H),4.33(q,J=7.1Hz,2H),4.08(d,J=9.8Hz,1H),1.90(dd,J=12.7,4.8Hz,2H),1.64(t,J=12.3Hz,2H),1.52(q,J=10.7,9.1Hz,2H),1.33(t,J=7.1Hz,3H),1.12(d,J=13.0 Hz,2H),0.40-0.21(m,4H)。

[0956] 中间体1k:2-氯-4-(螺[2.5]辛-6-基氨基)嘧啶-5-甲酸

[0957] 

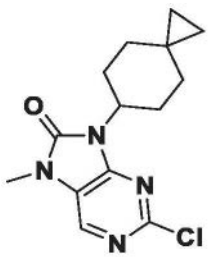
[0958] 向中间体1j(2g,1.0当量)于1:1THF/H_2O(0.3M)中的溶液中添加LiOH(2.0当量)。将混合物在20℃下搅拌12h。过滤反应混合物,并且将滤液在减压下浓缩,得到残余物。利用2M HCl将残余物调整至pH 2,并且通过过滤收集沉淀物,用水洗涤,并在真空下干燥。产物不经额外纯化即直接用于下一步骤中(82%)。^{1}H NMR(400MHz,$(CD_3)_2SO$)δ13.54(s,1H),8.38(d,J=8.0Hz,1H),8.35(s,1H),3.82(qt,J=8.2,3.7Hz,1H),1.66(dq,J=12.8,4.1Hz,2H),1.47-1.34(m,2H),1.33-1.20(m,2H),0.86(dt,J=13.6,4.2Hz,2H),0.08(dd,J=8.3,4.8Hz,4H)。

[0959] 中间体11:2-氯-9-(螺[2.5]辛-6-基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮

[0960] 

[0961] 向中间体1k(1.5g,1.0当量)和Et_3N(1.0当量)于DMF(0.3M)中的混合物中添加DPPA(1.0当量)。将混合物在N_2气氛下在120℃下搅拌8h。将反应混合物倒入水中。通过过滤收集沉淀物,用水洗涤,并在真空下干燥以得到残余物,其不经额外纯化即直接用于下一步骤中(67%)。^{1}H NMR(400MHz,$(CD_3)_2SO$)δ11.68(s,1H),8.18(s,1H),4.26(ddt,J=12.3,7.5,3.7Hz,1H),2.42(qd,J=12.6,3.7Hz,2H),1.95(td,J=13.3,3.5Hz,2H),1.82-1.69(m,2H),1.08-0.95(m,2H),0.39(tdq,J=11.6,8.7,4.2,3.5Hz,4H)。

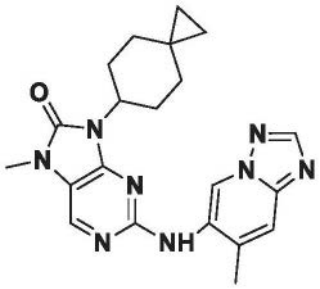
[0962] 中间体1m:2-氯-7-甲基-9-(螺[2.5]辛-6-基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮

[0963] 

[0964] 向中间体11(1.0 g,1.0当量)和NaOH(5.0当量)于1:1THF/H_2O(0.3-0.5M)中的混合物中添加MeI(2.0当量)。将混合物在N_2气氛下在20℃下搅拌12h。将反应混合物在减压下

浓缩,得到残余物,通过柱色谱法纯化所述残余物,得到呈浅黄色固体的产物(67%)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δ7.57(s,1H),4.03(tt,J=12.5,3.9Hz,1H),3.03(s,3H),2.17(qd,J=12.6,3.8Hz,2H),1.60(td,J=13.4,3.6Hz,2H),1.47-1.34(m,2H),1.07(s,1H),0.63(dp,J=14.0,2.5Hz,2H),-0.05(s,4H)。

[0965] DNAPKI化合物4:7-甲基-2-((7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氨基)-9-(螺[2.5]辛-6-基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮

[0966] 

[0967] 将中间体1m(1.0当量)和中间体1d(1.0当量)、Pd(dppf)Cl_2(0.2当量)、XantPhos(0.4当量)和Cs_2CO_3(2.0当量)于DMF(0.2-0.3M)中的混合物脱气并用N_2吹扫3次,并且将混合物在N_2气氛下在130℃下搅拌12h。接着将混合物倒入水中,并用DCM萃取3次。将合并的有机相用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并且将滤液在真空中浓缩。通过柱色谱法纯化残余物,得到呈灰白色固体的产物。^{1}H NMR(400MHz,$(CD_3)_2SO$)δ9.09(s,1H),8.73(s,1H),8.44(s,1H),8.16(s,1H),7.78(s,1H),4.21(t,J=12.5Hz,1H),3.36(s,3H),2.43(s,3H),2.34(dt,J=13.0,6.5Hz,2H),1.93-1.77(m,2H),1.77-1.62(m,2H),0.91(d,J=13.2Hz,2H),0.31(t,J=7.1Hz,2H)。MS:405.5m/z[M+H]。

[0968] 用AAV处理的细胞接受3x10^5感染复数(MOI)的AAV6,所述AAV6编码侧翼为针对SpCas9G013006切割位点设计的同源臂的TCR(SEQ ID NO:297)。在第二天,向T细胞中添加额外100μL含有细胞因子的T细胞基础培养基。随后将电穿孔的T细胞再培养4天,并且收集细胞沉淀以进行如实施例1中所阐述的NGS测序。在解冻后第10天,通过流式细胞术对T细胞进行表型分析,以测定编辑是否导致细胞表面蛋白质的损失。

[0969] 表6-编辑处理

[0970]

处理	sgRNA	mRNA
Nme2 Cas9	G021469 TRAC	SEQ ID No: 305
Sp Cas9	G013006 TRAC	SEQ ID No.:307
Nme2 碱基编辑器	G028935 TRAC G028986 TRBC G028907 HLA-A	碱基编辑器 SEQ ID No:308 UGI SEQ ID No: 309
Sp 碱基编辑器	G023520 TRAC G023524 TRBC G023523 HLA-A	碱基编辑器 SEQ ID No: 306 UGI SSEQ ID No: 309

[0971] 对于流式细胞分析,在FACS缓冲液(PBS+2%FBS+2mM EDTA)中洗涤细胞。使工程化T细胞在靶向HLA-A2(Biolegend,343320)、CD3(Biolegend,300430)、CD4(Biolegend,317434)、CD8(Biolegend,301046)、Vb8(Biolegend,348104)的抗体与ViaKrome 808可固定

活力染料(Beckman Coulter,C36628)的混合液中温育。随后洗涤T细胞,并在Cytoflex仪器(Beckman Coulter)上进行分析。使用FlowJo软件包(第10.6.1版)实施数据分析。针对大小、活力、CD4或CD8表达和表7中所指示的标志物表达对T细胞进行门控。表7和图1A至图2C中的流式细胞术数据显示内源性TRAC、TRBC1或TRBC2基因座受到破坏的所有细胞,表示为非CD3+Vb8-的细胞的百分比。类似地,表7和图2A至图2C中的流式细胞术数据显示破坏HLA-A2表达的碱基编辑。表达转基因TCR(Vb8+)的细胞百分比示于表7和图3A至图3C中。表8和图4A至图4H中所示的NGS数据结果也显示当使用正交Cas9种类时,在TRAC、TRBC1和TRBC2基因座中的编辑。

[0972] 表7.展示细胞表面表型的T细胞的平均百分比

[0973]

标志物	处理	供体 45127		供体 3410		供体 3786	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
HLA-A-	无 RNA，无 AAV	3.11	1.01	2.41	0.77	0.31	0.32
	仅 AAV	1.28	1.33	3.52	2.66	0.50	0.18
	Nme2 BE，无向导	0.58	0.39	5.73	2.02	0.18	0.16
	Spy BE，无向导	0.64	0.47	1.46	1.04	0.19	0.16
	Nme2Cas9	3.32	3.22	2.55	2.51	0.35	0.31
	SpyCas9	3.28	3.75	2.43	1.16	0.37	0.31
	Nme2Cas9 + AAV	5.48	5.45	1.62	1.31	0.00	0.00
	SpyCas9 + AAV	3.94	4.05	1.26	1.64	0.28	0.49
	Nme2 BE	91.18	3.72	85.81	3.25	87.66	2.35
	Nme2 BE + Nme2Cas9	86.95	4.04	76.65	0.97	85.61	2.58
	Nme2 BE + SpyCas9	92.14	1.76	77.24	12.68	84.80	1.98
	Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV	96.17	0.86	89.47	3.07	91.14	2.99
	Nme2 BE + SpyCas9+ AAV	96.83	0.52	94.57	2.28	91.23	0.66
	Spy BE	96.17	0.35	93.77	2.33	96.37	0.72
	Spy BE + Nme2Cas9	96.85	0.86	89.84	3.15	91.58	3.17
	Spy BE + SpyCas9	88.39	3.19	90.08	2.81	85.05	4.59
	Spy BE + Nme2Cas9 + AAV	99.13	0.60	98.18	0.70	99.52	0.28
	Spy BE + SpyCas9 + AAV	95.90	3.57	94.33	6.33	85.08	15.10
100-	无 RNA，无 AAV	5.43	1.57	8.77	4.76	4.90	0.53

[0974]

标志物	处理	供体 45127		供体 3410		供体 3786	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
(CD3+ Vb8-)	仅 AAV	5.47	2.10	8.93	1.12	5.59	0.19
	Nme2 BE，无向导	4.95	0.87	7.37	0.87	5.20	0.80
	Spy BE，无向导	5.06	0.68	6.30	0.28	4.60	0.71
	Nme2Cas9	95.40	0.33	38.61	4.83	93.38	1.33
	SpyCas9	95.69	1.07	96.87	1.86	95.40	1.21
	Nme2Cas9 + AAV	55.60	4.17	52.36	7.23	64.49	3.87
	SpyCas9 + AAV	55.21	3.59	70.55	2.78	68.82	6.50
	Nme2 BE	96.86	2.85	92.80	6.16	92.87	1.17
	Nme2 BE + Nme2Cas9	93.62	2.26	89.74	2.27	93.45	3.39
	Nme2 BE + SpyCas9	97.11	2.00	86.25	12.98	95.45	0.87
	Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV	96.07	1.53	97.14	0.56	97.75	1.08
	Nme2 BE + SpyCas9+ AAV	96.37	0.59	97.69	0.18	97.27	1.15
	Spy BE	97.84	1.13	97.01	1.20	96.03	0.20
	Spy BE + Nme2Cas9	98.85	0.51	97.79	0.82	93.99	1.57
	Spy BE + SpyCas9	92.26	3.62	92.97	2.36	85.78	5.33
	Spy BE + Nme2Cas9 + AAV	99.66	0.59	98.58	0.80	99.63	0.21
	Spy BE + SpyCas9 + AAV	95.39	4.32	94.63	6.43	86.04	14.58
Vb8+	无 RNA，无 AAV	4.52	2.28	7.85	3.41	4.30	0.76
	仅 AAV	5.37	2.12	8.57	1.15	4.81	0.24
	Nme2 BE，无向导	3.94	1.70	6.93	0.70	4.69	0.74
	Spy BE，无向导	4.58	0.81	6.02	0.18	4.21	0.62

[0975]

标志物	处理	供体 45127		供体 3410		供体 3786	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
	Nme2Cas9	0.28	0.16	3.59	1.46	0.23	0.23
	SpyCas9	0.34	0.31	0.48	0.83	0.14	0.09
	Nme2Cas9 + AAV	49.49	5.74	49.23	8.00	59.70	6.46
	SpyCas9 + AAV	49.72	3.83	66.90	3.45	63.34	7.86
	Nme2 BE	0.05	0.09	0.35	0.61	0.13	0.07
	Nme2 BE + Nme2Cas9	0.60	1.05	0.26	0.46	0.12	0.15
	Nme2 BE + SpyCas9	0.22	0.19	0.90	0.90	0.05	0.04
	Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV	56.65	4.77	57.19	2.78	65.74	3.66
	Nme2 BE + SpyCas9+ AAV	79.48	2.27	80.11	2.56	81.06	1.35
	Spy BE	0.06	0.05	0.33	0.13	0.09	0.02
	Spy BE + Nme2Cas9	0.05	0.08	0.38	0.05	0.26	0.34
	Spy BE + SpyCas9	0.58	0.60	0.42	0.26	0.11	0.19
	Spy BE + Nme2Cas9 + AAV	93.65	1.49	82.46	4.70	93.43	4.20
	Spy BE + SpyCas9 + AAV	59.29	10.60	62.74	10.82	57.84	9.70

[0976] 表8-T细胞的平均编辑百分比

[0977]

基因座	供体	处理	C 至 T			C 至 A/G			插入/缺失		
			平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n
Spy BE TRAC	供体 3410	无 RNA，无 AAV	0.22	0.21	3	0.47	0.41	3	0.14	0.13	3
		Spy BE	82.54	5.70	3	1.18	0.07	3	4.71	4.56	3

[0978]

基因座	供体	处理	C 至 T			C 至 A/G			插入/缺失		
			平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n
G023520		Spy BE + Nme2Cas9	83.08	6.03	3	2.92	2.64	3	0.89	0.78	3
		Spy BE + SpyCas9	58.58	2.58	3	1.04	0.27	3	22.05	0.76	3
	供体 3786	无 RNA，无 AAV	0.31	0.19	3	0.63	0.00	3	0.19	0.02	3
		Spy BE	91.66	0.95	3	1.11	0.08	3	1.18	0.20	3
		Spy BE + Nme2Cas9	92.07	2.22	3	1.37	0.19	3	0.94	0.15	3
		Spy BE + SpyCas9	63.28	0.72	3	1.11	0.28	3	28.98	0.27	3
	供体 45127	无 RNA，无 AAV	17.82	17.45	3	1.00	0.29	3	0.55	0.48	3
		Spy BE	93.89	0.94	3	1.08	0.12	3	0.63	0.11	3
		Spy BE + Nme2Cas9	94.05	1.12	3	1.14	0.09	3	0.71	0.24	3
		Spy BE + SpyCas9	62.68	1.62	3	1.00	0.09	3	28.64	0.96	3
Spy BE TRBC1 G023524	供体 3410	无 RNA，无 AAV	0.30	0.02	3	1.58	0.17	3	0.32	0.12	3
		Spy BE	41.64	16.02	3	2.78	0.72	3	37.83	26.97	3
		Spy BE + Nme2Cas9	85.43	5.60	3	4.94	0.40	3	3.36	3.54	3
		Spy BE + SpyCas9	45.07	6.66	3	2.77	0.33	3	40.63	6.14	3
	供体 3786	无 RNA，无 AAV	1.31	0.93	3	1.70	0.10	3	0.53	0.07	3
		Spy BE	84.95	5.87	2	4.76	0.25	2	3.50	2.12	2
		Spy BE + Nme2Cas9	89.15	1.66	3	4.56	0.16	3	1.26	0.10	3
		Spy BE + SpyCas9	50.70	2.37	3	2.66	0.17	3	40.24	0.94	3
	供体 45127	无 RNA，无 AAV	0.59	0.05	3	1.58	0.28	3	0.51	0.09	3
		Spy BE	84.82	4.62	3	4.20	0.45	3	1.55	0.23	3
		Spy BE + Nme2Cas9	90.59	0.74	3	4.36	0.30	3	1.12	0.08	3

[0979]

基因座	供体	处理	C 至 T			C 至 A/G			插入/缺失		
			平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n
		Spy BE + SpyCas9	49.44	6.79	3	2.74	0.43	3	36.66	4.32	3
Spy BE TRBC2 G023524	供体 3410	无 RNA，无 AAV	1.82	0.56	3	2.22	0.18	3	0.33	0.02	3
		Nme2 BE	81.25	2.37	3	6.25	0.27	3	2.38	0.17	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	28.93	2.87	3	2.90	0.16	3	45.04	1.57	3
		Spy BE + Nme2Cas9	77.18	7.55	3	6.58	1.17	3	2.37	0.68	3
	供体 3786	无 RNA，无 AAV	2.58	0.26	2	2.23	0.00	2	0.39	0.05	2
		Nme2 BE	53.46	46.30	3	38.01	53.69	3	1.83	1.70	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	34.59	1.87	3	2.77	0.25	3	53.90	1.70	3
		Spy BE + Nme2Cas9	84.02	2.41	3	7.17	0.61	3	2.43	0.51	3
	供体 45127	无 RNA，无 AAV	1.89	0.86	3	2.28	0.09	3	0.29	0.10	3
		Nme2 BE	83.00	0.98	3	6.36	0.29	3	2.39	0.94	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	33.53	5.09	3	2.78	0.32	3	49.17	7.44	3
		Spy BE + Nme2Cas9	87.88	0.75	3	5.97	0.28	3	1.77	0.04	3
SpyCas9 TRAC G013006	供体 3410	无 RNA，无 AAV	0.16	0.03	3	0.73	0.06	3	0.44	0.11	3
		SpyCas9	0.01	0.01	3	0.13	0.03	3	96.11	0.27	3
		Nme2 BE + SpyCas9	6.54	0.68	3	0.45	0.13	3	83.37	9.38	3
		Spy BE + SpyCas9	66.13	1.10	3	2.77	0.23	3	23.59	0.94	3
	供体 3786	无 RNA，无 AAV	0.18	0.04	3	0.79	0.04	3	0.46	0.21	3
		SpyCas9	0.03	0.01	3	0.06	0.01	3	97.47	0.41	3
		Nme2 BE + SpyCas9	5.19	0.80	3	0.30	0.03	3	91.86	0.43	3
		Spy BE + SpyCas9	64.38	1.16	3	2.78	0.18	3	27.24	0.77	3

[0980]

基因座	供体	处理	C 至 T			C 至 A/G			插入/缺失		
			平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n
	供体 45127	无 RNA，无 AAV	0.22	0.04	3	0.76	0.16	3	0.32	0.08	3
		SpyCas9	0.03	0.02	3	0.11	0.03	3	96.72	0.54	3
		Nme2 BE + SpyCas9	7.57	0.50	3	0.33	0.01	3	89.96	0.66	3
		Spy BE + SpyCas9	67.08	0.48	3	2.69	0.33	3	24.13	0.13	3
Nme2 BE TRAC G028935	供体 3410	无 RNA，无 AAV	0.24	0.00	1	1.18	0.00	1	0.13	0.00	1
		Nme2 BE	60.14	14.46	3	2.24	1.07	3	9.63	13.65	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	20.74	0.91	2	2.03	0.01	2	44.67	1.31	2
		Spy BE + Nme2Cas9	22.62	14.01	3	1.78	0.32	3	1.45	0.99	3
	供体 3786	无 RNA，无 AAV	0.30	0.05	3	1.19	0.17	3	0.15	0.02	3
		Nme2 BE	86.81	1.57	3	3.18	0.55	3	2.69	1.25	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	21.13	3.19	3	1.55	0.25	3	69.11	6.71	3
		Spy BE + Nme2Cas9	83.36	2.74	3	3.51	0.26	3	4.50	0.36	3
	供体 45127	无 RNA，无 AAV	0.34	0.04	2	1.28	0.13	2	0.10	0.01	2
		Nme2 BE	69.26	16.30	3	2.86	0.43	3	3.04	1.83	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	24.18	1.65	3	1.85	0.16	3	51.95	2.75	3
		Spy BE + Nme2Cas9	58.64	6.57	3	2.29	0.06	3	3.31	1.68	3
Nme2 BE TRBC1 G028986	供体 3410	无 RNA，无 AAV	0.67	0.02	3	2.14	0.06	3	0.19	0.02	3
		Nme2 BE	80.76	1.87	3	5.96	0.12	3	2.19	0.06	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	33.74	3.05	3	3.25	0.22	3	39.30	2.37	3
		Spy BE + Nme2Cas9	76.48	10.05	3	6.76	1.27	3	2.18	0.38	3
	供体	无 RNA，无 AAV	2.08	0.88	3	2.10	0.26	3	0.29	0.15	3

[0981]

基因座	供体	处理	C 至 T			C 至 A/G			插入/缺失		
			平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n
	供体 3786	Nme2 BE	83.13	0.88	3	7.15	0.50	3	2.89	1.48	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	32.96	6.88	3	2.87	0.62	3	53.89	5.17	3
		Spy BE + Nme2Cas9	81.49	2.92	3	7.34	0.52	3	3.14	1.18	3
	供体 45127	无 RNA，无 AAV	1.30	0.17	3	2.23	0.24	3	0.23	0.01	3
		Nme2 BE	77.77	10.90	3	5.68	1.10	3	1.60	0.30	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	32.22	0.92	3	2.76	0.30	3	49.49	1.83	3
		Spy BE + Nme2Cas9	86.16	1.21	3	5.91	0.29	3	2.21	0.14	3
Nme2 BE TRBC2 G028986	供体 3410	无 RNA，无 AAV	1.82	0.56	3	2.22	0.18	3	0.33	0.02	3
		Nme2 BE	81.25	2.37	3	6.25	0.27	3	2.38	0.17	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	28.93	2.87	3	2.90	0.16	3	45.04	1.57	3
		Spy BE + Nme2Cas9	77.18	7.55	3	6.58	1.17	3	2.37	0.68	3
	供体 3786	无 RNA，无 AAV	2.58	0.26	2	2.23	0.00	2	0.39	0.05	2
		Nme2 BE	53.46	46.30	3	38.01	53.69	3	1.83	1.70	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	34.59	1.87	3	2.77	0.25	3	53.90	1.70	3
		Spy BE + Nme2Cas9	84.02	2.41	3	7.17	0.61	3	2.43	0.51	3
	供体 45127	无 RNA，无 AAV	1.89	0.86	3	2.28	0.09	3	0.29	0.10	3
		Nme2 BE	83.00	0.98	3	6.36	0.29	3	2.39	0.94	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	33.53	5.09	3	2.78	0.32	3	49.17	7.44	3
		Spy BE + Nme2Cas9	87.88	0.75	3	5.97	0.28	3	1.77	0.04	3
Nme2Cas9 TRAC	供体 3410	无 RNA，无 AAV	0.17	0.03	3	0.75	0.14	3	0.57	0.09	3
		Nme2 BE	0.10	0.01	3	0.63	0.23	3	41.21	1.82	3

[0982]

基因座	供体	处理	C 至 T			C 至 A/G			插入/缺失		
			平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n
G021469		Nme2 BE + Nme2Cas9	0.37	0.02	3	0.73	0.07	3	13.32	0.64	3
		Spy BE + Nme2Cas9	0.10	0.02	3	0.55	0.04	3	34.91	0.39	3
	供体 3786	无 RNA，无 AAV	0.19	0.08	3	0.72	0.05	3	0.47	0.21	3
		Nme2 BE	0.02	0.04	3	0.04	0.04	3	98.31	2.79	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	0.00	0.00	3	0.00	0.00	3	33.83	57.30	3
		Spy BE + Nme2Cas9	0.05	0.02	3	0.14	0.05	3	89.85	4.22	3
	供体 45127	无 RNA，无 AAV	0.21	0.05	3	0.78	0.08	3	0.41	0.10	3
		Nme2 BE	0.03	0.01	3	0.08	0.01	3	95.24	0.85	3
		Nme2 BE + Nme2Cas9	0.27	0.07	3	0.50	0.07	3	37.49	1.05	3
		Spy BE + Nme2Cas9	0.04	0.01	3	0.11	0.02	3	95.29	0.22	3

[0983] 实施例3.使用脂质纳米颗粒的一锅式方法

[0984] 实施例3.1.T细胞制备

[0985] 以商业方式获得健康人类供体血球分离(Hemacare)，并且洗涤细胞，重悬于CliniMACS®PBS/EDTA缓冲液(Miltenyi Biotec，目录号130-070-525)中，并且在MultiMACS™ Cell 24Separator Plus装置(Miltenyi Biotec)中处理。使用Straight from Leukopak®人类CD4/CD8微珠试剂盒(Miltenyi Biotec，目录号130-122-352)，经由正选择分离T细胞。将T细胞等分，并在Cryostor®CS10(StemCell Technologies，目录号07930)中冷冻保存以供将来使用。

[0986] 解冻后，将T细胞以1.0x10^{6}个细胞/mL的密度平铺于T细胞生长培养基(TCGM)中，所述培养基由CTS OpTmizer T细胞扩增SFM和T细胞扩增补充物(ThermoFisher，目录号A1048501)、5％人类AB血清(GeminiBio，目录号100-512)、1X青霉素-链霉素、1X Glutamax、10mM HEPES、200U/mL重组人类白介素-2(Peprotech，目录号200-02)、5ng/mL重组人类白介素7(Peprotech，目录号200-07)和5ng/mL重组人类白介素15(Peprotech，目录号200-15)构成。使T细胞在此培养基中静置24小时，此时用以1:100体积比添加的T细胞TransAct™人类试剂(Miltenyi，目录号130-111-160)使所述T细胞活化。T细胞在LNP处理之前活化48小时。

[0987] 实施例3.2.T细胞处理和扩增

[0988] 活化后48小时,收获T细胞,以500g离心5min,并以1x10^{6}个T细胞/mL的浓度重悬于T细胞平铺培养基(TCPM)中:TCGM的无血清形式,其含有400U/mL重组人类白介素-2(Peprotech,目录号200-02)、10ng/ml重组人类白介素7(Peprotech,目录号200-07)和10ng/ml重组人类白介素15(Peprotech,目录号200-15)。将TCPM中的T细胞以5x 10^{4}个细胞/孔接种于平底96孔板中。

[0989] 如实施例1中所阐述,以35脂质A/47.5胆固醇/15DSPC/2.5PEG2k-DMG的摩尔比生成LNP。信使RNA序列是如实施例1中所阐述。在T细胞处理之前,在T细胞处理培养基(TCTM)中制备不同的LNP混合物:TCTM为一种形式的TCGM,其含有20ug/mL rhApoE3,不存在白介素2、7或15。每个处理组中每个LNP的最终浓度示于表9中。使LNP混合物在37℃下温育15分钟,并且接着添加至先前接种于96孔板中的5x10^{4}个T细胞中。

[0990] 接下来,将化合物1和呈编码TCR(SEQ ID NO:297)的腺相关病毒(AAV)形式的修复模板在TCTM中稀释,并且分别以0.5μM和3x10^{5}个基因组拷贝/细胞的最终浓度添加至T细胞中。使T细胞在37℃下温育24小时,此时将其以500g离心5min,重悬于新鲜TCGM中并放回至温育器。在处理后第4天,T细胞在TCGM中以1:4比率(v/v)继代培养。在处理后第7天,实施流式细胞术以评估由Sp碱基编辑器靶向的基因编码的不同表面受体的敲除效率以及SpCas9或Nme2 Cas9的在TRAC基因座中的TCR插入效率。

[0991] 表9.每个处理组中LNP混合物的组成。每个LNP的最终浓度以μg/mL示出

[0992]

LNP 组成	处理组						
	未经处理	仅 AAV	仅 SpBC22n	仅 SpCas9	仅 Nme2 Cas9	SpBC22n + SpCas9	SpBC22n + Nme2 Cas9
SpBC22n mRNA	-	-	0.83	-	-	0.83	0.83
UGI mRNA	-	-	0.4175	-	-	0.4175	0.4175
TRAC G023520 SpBC22n 向导	-	-	0.15	-	-	0.15	0.15
TRBC1/2 G023524 SpBC22n 向导	-	-	0.29	-	-	0.29	0.29
CIITA G023521 SpBC22n 向导	-	-	0.715	-	-	0.715	0.715
HLA-A G023524 SpBC22n 向导	-	-	2.185	-	-	2.185	2.185
SpCas9 mRNA	-	-	-	0.4175	-	0.4175	-

[0993]

TRAC G013006 Spy Cas9 向导	-	-	-	0.83	-	0.83	-
Nme2 Cas9 mRNA	-	-	-	-	0.4175	-	0.4175
TRAC G021469 Nme2 Cas9 向导	-	-	-	-	0.83	-	0.83
HD1 TCR AAV	-	+	-	+	+	+	+

[0994] 实施例3.3.流式细胞术

[0995] 在LNP处理后第7天,将T细胞转移至U形底96孔板中,并以500g旋转沉降5分钟。弃去上清液,并且将细胞重悬于含有Viakrome 808(Beckman Coulter,目录号C36628)(1:100)、PC5.5抗人类CD3(Biolegend,目录号300430)(1:100)、BV421抗人类CD4(Biolegend,目录号317434)(1:100)、BV785抗人类CD8(Biolegend,目录号301046)(1:100)、APC/Fire 750抗人类HLA-DR,DP,DQ(Biolegend,目录号361712)(1:50)、BV510抗人类HLA-A2(Biolegend,目录号343320)(1:100)、FITC抗人类HLA-A3(eBioscience,目录号11-5754-42)(1:100)和PE抗人类TCRVβ8(Biolegend,目录号348104)(1:100)的FACS缓冲液中。使T细胞在黑暗中在4℃下染色30分钟。将T细胞洗涤一次,重悬于FACS缓冲液中,并在Cytoflex LX流式细胞仪(Beckman Coulter)上处理。在FlowJo第10.8.1版(BDBiosciences)上处理流式细胞术数据。针对大小、奇异性(singularity)以及活力和CD8+表达对所有T细胞进行门控。特异性抗原呈阴性和/或TCR插入呈阳性的CD8+T细胞百分比示于表10和图5A至图5E中。

[0996] 表10-不同抗原呈阴性和/或HD1TCR插入呈阳性的T细胞百分比

[0997]

标志物	处理组	供体1			供体2			供体3			供体4		
		平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n
CD3-	未经处理	0.7	0.2	3	0.3	0.1	3	0.3	0.1	3	0.3	0.0	3
	仅 AAV	0.5	0.2	3	0.2	0.1	3	0.1	0.1	3	0.2	0.1	3
	仅 SpBC22n	99.7	0.0	3	98.5	0.2	3	99.4	0.1	3	99.4	0.1	2
	仅 SpCas9	11.3	3.6	3	6.4	1.0	3	12.1	0.2	3	12.3	0.4	3
	仅 Nme2 Cas9	5.8	3.1	3	4.1	0.1	3	7.0	0.6	3	7.9	0.6	3
	SpBC22n + SpCas9	46.0	7.3	3	56.8	1.4	3	52.6	0.5	3	58.2	6.4	3
	SpBC22n + Nme2 Cas9	10.1	1.5	3	17.9	0.8	3	9.8	0.3	3	16.8	1.0	3
HLA-DR, DP, DQ-	未经处理	52.2	7.3	3	47.2	3.2	3	64.7	1.0	3	57.8	1.6	3
	仅 AAV	53.6	4.1	3	48.3	1.3	3	63.4	1.7	3	60.6	2.1	3
	仅 SpBC22n	97.8	0.4	3	96.4	0.4	3	98.2	0.1	3	98.0	0.4	2
	仅 SpCas9	53.7	3.5	3	63.7	0.7	3	74.5	1.3	3	60.9	1.2	3
	仅 Nme2 Cas9	44.9	9.2	3	54.8	1.8	3	62.6	1.1	3	52.5	0.6	3
	SpBC22n + SpCas9	95.7	2.3	3	91.4	0.3	3	97.7	0.1	3	93.3	2.7	3
	SpBC22n + Nme2 Cas9	98.7	0.1	3	96.2	0.6	3	99.0	0.2	3	98.0	0.3	3
HLA-A2-与 HLA-A3-的 联集	未经处理	1.2	0.2	3	0.8	0.2	3	1.2	0.4	3	1.1	0.2	3
	仅 AAV	1.2	0.1	3	0.2	0.1	3	0.2	0.1	3	0.4	0.2	3
	仅 SpBC22n	98.6	0.2	3	98.8	0.2	3	99.4	0.1	3	99.3	0.4	2
	仅 SpCas9	1.2	0.2	3	0.6	0.2	3	0.5	0.2	3	0.5	0.2	3

[0998]

标志物	处理组	供体1			供体2			供体3			供体4		
		平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n
	仅 Nme2 Cas9	0.7	0.2	3	0.1	0.0	3	0.2	0.0	3	0.4	0.3	3
	SpBC22n + SpCas9	98.7	0.6	3	95.2	1.2	3	99.5	0.1	3	98.5	0.8	3
	SpBC22n + Nme2 Cas9	99.9	0.1	3	98.5	0.2	3	99.9	0.0	3	99.9	0.0	3
CD3+ Vb8+	未经处理	4.4	0.5	3	6.6	1.1	3	7.3	0.6	3	7.5	4.5	3
	仅 AAV	5.8	1.5	3	6.5	0.3	3	6.2	0.6	3	4.4	1.0	3
	仅 SpBC22n	0.0	0.0	3	0.1	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	2
	仅 SpCas9	84.2	3.3	3	85.8	0.6	3	83.9	0.4	3	81.6	0.2	3
	仅 Nme2 Cas9	90.0	3.9	3	89.8	1.2	3	88.3	1.0	3	87.8	1.1	3
	SpBC22n + SpCas9	55.6	7.2	3	41.9	1.1	3	48.2	0.7	3	41.8	6.3	3
	SpBC22n + Nme2 Cas9	90.5	1.5	3	81.8	0.6	3	90.5	0.2	3	83.7	0.9	3
CD3+、 Vb8+、 HLA-DR, DP, DQ-、 [HLA-A2- /HLA-A A3-]	未经处理	0.1	0.2	3	0.5	0.1	3	0.8	0.4	3	0.6	0.2	3
	仅 AAV	0.1	0.1	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3
	仅 SpBC22n	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3	0.0	0.0	3
	仅 SpCas9	0.6	0.2	3	0.1	0.0	3	0.2	0.1	3	0.2	0.1	3
	仅 Nme2 Cas9	0.5	0.1	3	0.1	0.0	3	0.1	0.0	3	0.2	0.1	3
	SpBC22n + SpCas9	53.5	7.6	3	37.1	0.4	3	46.7	0.4	3	38.2	4.8	3
	SpBC22n + Nme2 Cas9	89.6	1.3	3	79.2	0.6	3	89.8	0.2	3	82.5	0.6	3

[0999] 实施例4.原代小鼠肝细胞中Nme2Cas9和SpBC22n的同时多重编辑

[1000] 使用NmeCas9在白蛋白基因座处并且使用SpCas9或SpBC22n碱基编辑器在TTR基因座处同时编辑原代小鼠肝细胞(PMH)。使PMH(Gibco,批号MC931)解冻并重悬于含有平铺补充物(威廉E培养基(William′s E Medium,Gibco,目录号A12176-01))与地塞米松(dexamethasone)+混合液补充物(Gibco,目录号A15563,批号2019842)以及平铺补充物与FBS内容物(Gibco,目录号A13450,批号1970698)的肝细胞解冻培养基中,之后离心。弃去上清液,并且将沉淀细胞重悬于肝细胞平铺培养基加补充物包(Invitrogen,目录号A1217601,和Gibco,目录号CM3000)中。对细胞进行计数,并且以20,000个细胞/孔的浓度平铺在生物涂层胶原I包被的96孔板(ThermoFisher,目录号877272)上。使所平铺的细胞在组织培养温育器中在37℃和5%CO2气氛下沉降并粘附4-6小时。温育后,检查细胞的单层形成并且用肝细胞维持培养基(Invitrogen,目录号A1217601,和Gibco,目录号CM4000)洗涤一次。每个条件都用技术双重复样品进行测试。添加Cellartis PowerHEP培养基(Takara Bio,Y20020),以使每个板的总体积为100uL。

[1001] 通常如实施例1中所阐述,利用单一RNA种类作为货品或gRNA与mRNA的共制剂制备LNP。以50脂质A:38胆固醇:9的摩尔比制备LNP以50脂质A:38胆固醇:9DSPC:3PEG2k-DMG的摩尔比制备LNP。信使RNA序列是如实施例1中所阐述。以脂质胺对RNA磷酸酯(N:P)摩尔比为约6配制LNP。对于Nme2Cas9 mRNA和白蛋白向导共制剂,以2:1重量比的gRNA对编辑器mRNA货品制备LNP。对于SpyCas9和SpyCas9碱基编辑器mRNA和TTR向导单一制剂,以单一RNA种类作为货品制备LNP,并且在处理前将LNP以gRNA货品对编辑器mRNA货品的重量比为1:2混合。

[1002] 利用表11中所指示剂量的LNP处理细胞。稀释系列指示将向导和编辑器mRNA组合,以300ng高浓度起始,使用剂量的8点三倍稀释系列。每个样品用额外5ng含有UGI mRNA的LNP处理。在用编码NanoLuc模板(SEQ ID No:304)的AAV载体处理的细胞中,在感染复数(MOI)为5E5时测试插入效率,并且使用Nano-Glo荧光素酶测定,经由NanoLuc模板的表达进行定量。在未接受AAV处理的细胞中测试编辑效率。所递送的所有组分的总体积为100uL/孔。

[1003] 表11

[1004]

组	处理	mRNA	gRNA	剂量
仅 Nme2Cas9 插入	LNP	Nme2Cas9	G023805 (白蛋白)	稀释系列
仅 SpCas9 插入	LNP 混合物	SpCas9	G025427 (TTR)	稀释系列
仅 Spy 碱基编辑	LNP 混合物	Sp BE	G025427 (TTR)	稀释系列
SpCas9 +固定 A1AT 插入	LNP	Nme2Cas9	G023805 (白蛋白)	100 ng 组合 RNA
	LNP 混合物	SpCas9	G025427 (TTR)	稀释系列
Spy 碱基编辑 +固定 A1AT 插入	LNP	Nme2Cas9	G023805 (白蛋白)	100 ng 组合 RNA
	LNP 混合物	Sp BE	G025427 (TTR)	稀释系列
插入+固定 SpCas9	LNP	Nme2Cas9	G023805 (白蛋白)	稀释系列
	LNP 混合物	SpCas9	G025427 (TTR)	100 ng 组合 RNA
插入+固定碱基编辑	LNP	Nme2Cas9	G023805 (白蛋白)	稀释系列
	LNP 混合物	Sp BE	G025427 (TTR)	100 ng 组合 RNA

[1005] 处理后72小时,将用于编辑读出的转染板经受溶解,对TTR和白蛋白基因座进行PCR扩增,并且随后如实施例1中所阐述进行NGS分析。所有实验都以生物双重复实施。表12和图6B显示TTR基因座处的平均编辑百分比。

[1006] 表12.在用SpCas9或Sp碱基编辑器处理后,TTR基因座处的平均编辑百分比。

[1007]

处理	编辑器+gRNA (ng)	C 至 T%		C 至 A/G%		插入/缺失%	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
仅插入	300.0	0.78	0.20	1.32	0.39	0.73	0.33
	100.0	0.54	0.16	0.91	0.11	0.36	0.09
	33.0	0.73	0.24	1.02	0.01	0.66	0.28
	11.0	0.90	0.05	1.04	0.18	0.50	0.03
	3.7	0.87	0.17	1.22	0.08	0.98	0.18
	1.2	0.98	0.57	0.92	0.10	0.66	0.00
	0.4	0.83	0.27	1.00	0.03	0.50	0.04
	0.0	0.80	0.19	1.20	0.34	0.53	0.06
SpCas9	300.0	0.02	0.01	0.14	0.00	99.24	0.08
	100.0	0.02	0.01	0.06	0.02	97.71	0.97
	33.0	0.13	0.14	0.11	0.01	95.67	1.62
	11.0	0.31	0.14	0.28	0.04	89.06	1.26
	3.7	0.53	0.22	0.27	0.10	84.35	1.10
	1.2	0.70	0.23	0.46	0.02	60.17	0.15
	0.4	1.14	0.62	0.70	0.01	28.28	0.45
	0.0	1.09	0.12	1.27	0.54	9.10	0.90
仅碱基编辑	300.0	61.27	1.27	11.00	1.52	26.68	0.06
	100.0	56.74	3.40	10.98	0.58	30.52	3.01
	33.0	50.56	2.71	10.34	1.34	36.02	0.31
	11.0	48.79	2.79	10.21	1.28	32.73	1.03
	3.7	49.46	1.84	8.27	0.01	32.07	0.98
	1.2	51.11	2.84	5.88	1.07	26.28	3.16
	0.4	45.89	1.17	4.56	0.98	17.27	5.70
	0.0	23.53	3.66	2.10	0.13	9.93	0.98
SpCas9 + 固定插入	300.0	0.02	0.01	0.14	0.17	98.60	0.13
	100.0	0.06	0.04	0.21	0.21	97.61	0.33
	33.0	0.10	0.12	0.09	0.01	94.67	1.82
	11.0	0.36	0.26	0.44	0.35	86.53	0.54
	3.7	0.46	0.08	0.24	0.07	81.06	0.50
	1.2	0.65	0.14	0.60	0.11	56.78	2.21

[1008]

处理	编辑器+gRNA (ng)	C 至 T%		C 至 A/G%		插入/缺失%	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
	0.4	1.25	0.36	1.03	0.18	18.66	0.18
	0.0	0.71	0.00	0.98	0.21	4.06	0.59
碱基编辑+固定插入	300.0	58.44	1.05	11.80	0.70	28.44	1.27
	100.0	57.96	3.20	11.30	0.78	29.11	2.28
	33.0	57.80	1.62	9.39	0.35	30.47	2.81
	11.0	48.69	0.37	9.39	0.64	34.05	3.43
	3.7	51.81	1.75	10.39	0.33	31.84	0.18
	1.2	54.91	2.76	9.05	0.78	29.69	3.90
	0.4	46.13	2.51	3.35	0.29	16.98	1.49
	0.0	42.78	1.66	3.08	0.32	11.53	1.87
插入+固定 SpCas9	300.0	0.07	0.04	0.17	0.01	90.88	0.01
	100.0	0.05	0.00	0.11	0.04	92.86	0.14
	33.0	0.02	0.01	0.14	0.00	96.98	0.27
	11.0	0.03	0.00	0.08	0.02	98.17	0.10
	3.7	0.04	0.01	0.10	0.01	97.99	0.02
	1.2	0.06	0.02	0.11	0.02	98.02	0.36
	0.4	0.03	0.03	0.10	0.03	98.12	0.67
	0.0	0.04	0.00	0.12	0.06	97.56	0.01
插入+固定碱基编辑	300.0	60.82	0.62	9.31	0.81	28.69	0.45
	100.0	61.26	3.13	10.58	2.28	26.73	1.34
	33.0	54.48	2.86	11.08	0.12	32.86	2.55
	11.0	48.15	1.58	10.69	0.21	36.16	0.78
	3.7	50.37	2.72	11.11	1.00	33.73	0.52
	1.2	57.19	1.63	10.77	0.29	30.94	1.10
	0.4	59.47	7.16	9.58	2.93	29.58	3.70
	0.0	60.91	0.45	10.56	0.89	27.46	0.06

[1009] 对于用于插入读出的转染板,遵循制造商的说明,将50uL来自每个孔的培养基添加至等量的所制备Nano-Glo荧光素酶测定试剂(PromegaN11 10)中,以量化NanoLuc信号并在BiotekNeo2读板仪中读取。将剩余培养基从插入读出板中吸出,并且用100uL所制备CellTiterGlo试剂(Promega G9241)量化细胞活力,并在Biotek Neo2读板仪中读取。通过将NanoLuc信号除以细胞活力信号,经由细胞活力对NanoLuc信号进行归一化。表13和图6A显示如在无AAV样品中所测定的在白蛋白基因座处的平均插入/缺失百分比。表13和图6A也显示由细胞活力归一化的平均荧光,其为跨群体的相对插入效率读出。

[1010] 表13.白蛋白基因座处NanoLuc的插入,表示为相对于细胞活力进行归一化的发光(RLU)

[1011]

处理	编辑器+gRNA (ng)	插入/缺失%			插入 (RLU/细胞活力)		
		平均值	SD	n	平均值	SD	n
仅插入	300	90.66	4.91	2	32.80	5.15	2
	100	91.46	2.06	2	22.40	1.51	2
	33	82.17	1.06	2	19.80	1.10	2
	11	43.08	15.62	2	13.73	0.70	2
	3.7	34.69	1.10	2	4.91	2.43	2
	1.2	10.32	1.81	2	1.47	1.01	2
	0.4	4.26	1.78	2	0.74	0.59	2
	0	1.91	0.88	2	0.20	0.00	2
SpCas9	300	1.18	0.25	2	0.22	0.00	2
	100	0.93	0.18	2	0.10	0.04	2
	33	1.55	0.26	2	0.08	0.01	2
	11	0.93	0.31	2	0.07	0.01	2
	3.7	1.07	0.50	2	0.10	0.00	2
	1.2	1.40	0.34	2	0.09	0.01	2
	0.4	1.30	0.64	2	0.06	0.02	2
	0	0.94	0.13	2	0.06	0.01	2
仅碱基编辑	300	0.40	0.30	2	0.12	0.03	2
	100	0.95	0.17	2	0.09	0.01	2
	33	1.03	0.59	2	0.07	0.01	2
	11	0.73	0.28	2	0.05	0.02	2
	3.7	0.80	0.00	2	0.06	0.02	2
	1.2	0.70	0.10	2	0.07	0.02	2
	0.4	1.03	0.14	2	0.07	0.02	2
	0	0.88	0.18	2	0.07	0.01	2
SpCas9 + 固定插入	300	67.04	5.35	2	33.10	0.00	1
	100	82.16	1.43	2	25.01	3.47	2
	33	87.32	1.43	2	22.74	1.18	2
	11	77.77	0.17	2	20.69	1.50	2
	3.7	82.93	4.74	2	18.82	2.77	2
	1.2	86.97	2.58	2	19.41	6.97	2
	0.4	86.17	2.09	2	17.86	0.65	2

[1012]

处理	编辑器+gRNA (ng)	插入/缺失%			插入 (RLU/细胞活力)		
		平均值	SD	n	平均值	SD	n
	0	91.25	0.08	2	24.70	1.05	2
碱基编辑+固定插入	300	76.37	2.74	2	20.16	8.66	2
	100	83.83	0.07	2	27.76	2.00	2
	33	88.91	0.28	2	19.82	11.09	2
	11	80.21	6.44	2	21.19	1.43	2
	3.7	88.42	1.23	2	19.94	1.25	2
	1.2	90.44	1.06	2	24.31	3.64	2
	0.4	89.96	2.22	2	18.80	0.53	2
	0	92.06	4.89	2	26.27	0.57	2
插入+固定SpCas9	300	88.20	3.05	2	33.10	2.95	2
	100	84.11	0.16	2	31.97	0.94	2
	33	78.36	5.41	2	26.88	1.38	2
	11	44.14	7.61	2	15.93	7.78	2
	3.7	18.85	5.05	2	8.73	1.91	2
	1.2	6.70	2.71	2	2.09	1.04	2
	0.4	2.15	1.27	2	0.82	1.06	2
	0	1.11	0.06	2	0.30	0.08	2
插入+固定碱基编辑	300	95.57	0.00	2	33.11	0.00	1
	100	84.00	0.10	2	25.21	0.51	2
	33	71.87	2.41	2	20.12	0.83	2
	11	44.47	8.35	2	12.13	1.68	2
	3.7	24.06	1.23	2	3.01	0.75	2
	1.2	4.01	1.13	2	1.45	0.53	2
	0.4	1.74	0.38	2	0.38	0.01	2
	0	1.16	0.22	2	0.17	0.01	2

[1013] 实施例5.体内正交编辑和插入

[1014] 在LNP递送后,在体内评价实施例4中所测试的sgRNA,以评估使用NmeCas9与SpCas9或Sp碱基编辑器在TTR基因座处同时编辑和将编码A1AT蛋白的SERPINA1插入至小鼠模型中的白蛋白基因座中的效率。

[1015] 本实验中所用的LNP是如实施例4中所阐述配制并制备,并且含有单一RNA种类作为货品或gRNA与mRNA的共制剂。所用的信使RNA是如实施例1中所阐述的那些信使RNA。如表14中所示,所配制的LNP与sgRNA和mRNA一起给与。LNP与在1x磷酸盐缓冲盐水+0.0001%PF-68中稀释的100uL AAV(SEQ ID NO:298)一起递送。

[1016] 表14.体内递送的LNP制剂

[1017]

组	LNP 货品	货品比率 (sgRNA: mRNA)	向导 ID	mRNA	剂量 (mg/kg)
1	TSS				
2	共制剂	2:1	G23805	Nme2 Cas9	0.50
3	单一货品		G25427		0.10
				Sp BC22n BE	0.20
				UGI	0.10
4	共制剂	2:1	G23805	Nme2 Ca9	0.50
	单一货品		G25427		0.10
				Sp BC22n BE	0.20
				UGI	0.10
5	共制剂	1:2	G25427		0.10
				Sp Cas9	0.20
6	共制剂	1:2	G23805	Nme2 Cas9	0.50
	单一货品		G25427		0.10
				Sp Cas9	0.20
				UGI	0.10

[1018] 在涉及小鼠的每项研究中使用6-10周龄范围内的C5BL/6雄性小鼠(n=5只/组,例外为TSS对照n=4)。LNP和AAV是以表14中所示的剂量经由尾静脉注射来静脉内施用。在给药后至少24小时内定期观察动物的不良效应。在给药后1周、2周和4周进行期中活体尾部取血,以通过ELISA分析量化小鼠血清中的hA1AT蛋白。简而言之,使用Aviva α1-抗胰蛋白酶ELISA人类试剂盒(目录号OKIA00048),根据制造商的方案测定hA1AT血清水平。将小鼠血清用1x测定稀释液稀释至10,000倍的最终稀释度。这是通过以下来完成:进行两次连续50倍稀释,从而产生2500倍稀释度。进行最终4倍稀释步骤,以获得10,000倍的总样品稀释度。将标准曲线稀释液(各100μL)和经稀释的血清样品二者添加至经捕获抗体预包被的ELISA板的每个孔中。使板在室温下温育30分钟,之后洗涤。添加酶-抗体缀合物(每孔100μL)温育20分钟。去除未结合的抗体缀合物,并且再次洗涤板,之后添加生色底物溶液。使板温育10分钟,之后添加100μL终止溶液,例如硫酸(大约0.3M)。在SpectraMax M5或Clariostar读板仪上在450nm的吸光度下读板。通过SoftMax Pro软件第6.4.2版或Mars软件第3.31版,使用拟合标准曲线的四参数逻辑曲线计算血清TTR水平。针对测定稀释度调整最终血清值。相对于对照测定蛋白质敲低百分比(KD%)值,除非另有指示,否则所述对照通常为用媒介物(TSS)假治疗的动物。

[1019] 注射后五周,在异氟烷麻醉下通过心脏穿刺使动物安乐死;收集肝脏组织用于下游分析。收集重量介于5mg与15mg之间的肝脏穿孔样品(punch)用于分离基因组DNA和总RNA。使用DNA分离试剂盒(ZymoResearch,D3010)提取基因组DNA,并且利用如实施例1中所阐述的NGS测序对样品进行分析。含有所指示gRNA的LNP的TTR编辑效率示于表15和图7A中。白蛋白编辑效率示于表16和图7B中。hA1AT的血清蛋白质水平示于表17和图7C中。

[1020] 表15-小鼠肝脏中的平均TTR编辑百分比。

	C 至 T %		C 至 A/G %		插入/缺失%		n
	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	
TSS	0.12	0.25	1.97	0.16	0.10	0.10	5
仅 Nme2Cas9 插入	24.67	0.05	1.93	0.25	0.09	0.12	5
仅 Spy BE	49.24	1.16	4.90	0.22	17.29	0.88	5
Nme2Cas9 插入+ Spy BE	21.86	1.68	4.94	0.22	17.41	1.23	4
仅 SpyCas9	0.03	0.01	0.62	0.08	70.75	1.23	5
Nme2Cas9 插入+ SpyCas9	0.05	0.03	0.67	0.15	71.99	2.77	5

[1021]

[1022] 表16-小鼠肝脏中的平均白蛋白编辑百分比。

	C 至 T %			C 至 A/G %			插入/缺失%		
	平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n
TSS	0.05	0.04	5	1.49	0.22	5	0.13	0.21	5
仅 Nme2Cas9 插入	0.02	0.01	5	0.65	0.08	5	46.58	0.60	5
仅 Spy BE	0.06	0.02	5	1.29	0.07	5	0.07	0.04	5
Nme2Cas9 插入+ Spy BE	0.03	0.03	5	0.85	0.37	5	51.42	3.02	4
仅 SpyCas9	0.07	0.02	5	1.30	0.08	5	0.03	0.02	5
Nme2Cas9 插入+ SpyCas9	0.01	0.01	3	0.57	0.16	3	51.44	3.75	3

[1023]

[1024] 表17-hA1AT的血清蛋白质水平。

[1025]

	周	平均值	SD	n
TSS	1	0	0	5
	2	0	0	5
	4	0	0	5
仅 Nme2Cas9 插入	1	2179.22	326.30	5
	2	2220.62	333.81	5
	4	3619.96	598.05	5
仅 Spy BE	1	0	0	5
	2	0	0	5
	4	0	0	5
Nme2Cas9 插入+ Spy BE	1	2347.69	188.48	5
	2	2158.60	196.80	4
	4	3183.90	709.25	4
仅 SpyCas9	1	0	0	5
	2	0	0	5
	4	0	0	5
Nme2Cas9 插入+ SpyCas9	1	2486.46	271.82	5
	2	2629.86	238.45	5
	4	4201.42	582.27	5

[1026] 实施例6.用空位AAV模板和SpyCas9筛选插入向导RNA

[1027] 设计AAVS1向导RNA,并且使用一系列空位AAV GFP模板(A、B、C、D、OG)进行筛选以鉴别插入SpyCas9向导,每个模板都针对向导RNA的子集而设计。通过流式细胞术,通过评估GFP表达来检查T细胞中的插入功效。在通过mRNA对AAVS1进行编辑和AAV递送后,通过流式细胞术分析绿色荧光蛋白呈阳性的T细胞百分比(“GFP+%”)。

[1028] 实施例6.1.T细胞制备

[1029] 从两名供体(110042863号和110040377号)商业获得健康人类供体血球分离(Hemacare),并且将细胞洗涤并重悬于含有于PBS中的2mMEDTA和0.5%胎牛血清(FBS)的MACS缓冲液中。通过离心将细胞洗涤两次,之后使用Easy Sep人类T细胞分离试剂盒(Stemcell,目录号100-0695)进行CD3负选择并使用Easy Sep Magnets(Stemcell,目录号18000)分离。将T细胞等分,并且在Cryostor® CS10(StemCell Technologies,目录号07930)中冷冻保存以供将来使用。

[1030] 实施例6.2.T细胞的RNP电穿孔

[1031] 通过流式细胞术,通过评估GFP表达来评估AAVS1向导RNA在T细胞中的插入功效。在通过mRNA对AAVS1进行编辑和AAV递送后,通过流式细胞术测定绿色荧光蛋白呈阳性的T细胞百分比(“GFP+%”)。

[1032] 将靶向对应于空位模板A、B、C、D和OG(SEQ ID NO:299-303)的侧翼同源区的sgRNA的AAVS1从其储存板中取出,并且在95℃下变性2分钟,之后在室温下冷却10分钟。制备20μM sgRNA和10μM Cas9-NLS蛋白(SEQ ID NO:296)的RNP混合物,并在25℃下温育10分钟。将2.5μL RNP混合物与250,000个细胞组合于20μL P3电穿孔缓冲液(Lonza)中。将22μL RNP/细胞

混合物转移至Lonzashuttle96孔电穿孔板的相应孔中。利用制造商的脉冲编码以一式两份对细胞进行电穿孔。在电穿孔后立即向细胞中添加上文所阐述的不含任何细胞因子的T细胞培养基。使T细胞在37℃下静置10分钟。在含有上文所阐述的T细胞培养基的48孔板(Corning,目录号353078)中制备空位模板AAV,所述T细胞培养基含有2X细胞因子、400U/mL重组人类白介素-2(Peprotech,目录号200-02)、10ng/ml重组人类白介素7(Peprotech,目录号200-07)和10ng/ml重组人类白介素15(Peprotech,目录号200-15)细胞因子。AAV的感染复数(MOI)为$3x10^5$。在电穿孔后15分钟内向T细胞中添加AAV,并且在37℃下温育48小时。AAV-6载体编码AAVS1模板A、B、C、D或OG。电穿孔后两天,细胞在补充有如上文所阐述的含有1X细胞因子的T细胞培养基的48孔板中1:2分裂。利用AAV构建体和空位模板测试每个sgRNA。

[1033] 实施例6.3.流式细胞术

[1034] 在编辑后第7天,通过流式细胞术对细胞进行表型分析,以测定GFP表达,从而证实AAV在其GAP模板位点处的整合。简而言之,在含有2mM EDTA(Invitrogen,目录号15575020)和于PBS中的1%FBS的FACS缓冲液中洗涤T细胞,之后重悬于含有1:10,000稀释度的DAPI(Biolegend,目录号422801)核染色剂的FACS缓冲液中。接着在Cytoflex流式细胞仪(Beckman Coulter)上处理细胞,并使用FlowJo软件包进行分析。基于大小、形状、活力和GFP表达对T细胞进行门控。不由流式细胞仪测定的值表示为“ND”。表18和图8A至图8B显示GFP表达呈阳性的T细胞的平均百分比。

[1035] 表18-在用SpyCas9和AAV对AAVS1进行基因组编辑后,GFP表达呈阳性的T细胞的平均百分比

[1036]

	向导 ID	供体 1			供体 2		
		平均值	SD	N	平均值	SD	N
对照	仅 EP	0.03	ND	1	0.04	ND	1
	仅 AAV	6.81	0.18	2	8.31	0.785	2
	TRAC	52.05	1.95	2	ND	ND	ND
模板 A	G000562	30.60	0.10	2	41.20	13.6	2
	G013562	65.75	0.45	2	62.35	0.95	2
	G013563	73.15	0.25	2	69.40	0.9	2
	G013564	65.95	0.45	2	61.20	0	2
	G013582	66.30	0.10	2	61.00	0.3	2

[1037]

	向导 ID	供体 1			供体 2		
		平均值	SD	N	平均值	SD	N
	G013584	69.15	0.15	2	62.95	3.95	2
模板 B	仅 AAV	8.44	1.07	2	9.74	0.23	2
	G000562	34.00	0.10	2	32.75	2.35	2
	G013559	65.55	0.35	2	64.05	2.65	2
	G013562	63.60	0.90	2	65.40	0.2	2
	G013563	69.15	0.65	2	71.35	0.35	2
	G013564	61.50	1.10	2	63.45	0.55	2
	G013565	63.50	0.40	2	65.00	1.1	2
模板 C	仅 AAV	7.98	ND	1	10.10	ND	1
	G000562	57.95	0.15	2	59.10	0.9	2
	G013515	61.15	0.65	2	60.95	1.15	2
	G013533	65.65	0.35	2	65.15	0.25	2
模板 D	仅 AAV	7.12	ND	1	10.70	ND	1
	G000562	29.65	1.15	2	27.50	0.7	2
	G013519	73.35	0.45	2	72.10	0.9	2
	G013520	71.80	0.20	2	72.20	1.3	2
	G013523	70.50	0.60	2	72.05	0.55	2
模板 OG	仅 AAV	6.32	ND	1	6.87	ND	1
	G000562	41.75	0.15	2	37.80	0.4	2
	G013543	65.25	0.05	2	64.40	0.2	2

[1038] 实施例7.正交或非正交多重编辑

[1039] 为评估使用正交编辑器或其他编辑方案进行同时多重编辑的细胞的编辑型态和细胞行为,用脂质纳米颗粒(LNP)处理T细胞,并且分析细胞扩增、编辑和表面蛋白质表达。

[1040] 实施例7.1.T细胞制备

[1041] 在第0天在水浴中使经分离的冷冻保存T细胞解冻,并以1.5x10^6个细胞/mL的密度平铺于含有CTS OpTmizer T细胞扩增SFM和T细胞扩增补充物(ThermoFisher,目录号A1048501)、1X青霉素-链霉素、1X Glutamax、10mM HEPES、200U/mL重组人类白介素-2(Peprotech,目录号200-02)、5ng/ml重组人类白介素7(Peprotech,目录号200-07)和5ng/ml重组人类白介素15(Peprotech,目录号200-15)和2.5%人类AB血清(GeminiBio,目录号100-512)的TCAM培养基中。使用来自3名供体的经分离T细胞实施生物学重复。

[1042] 实施例7.2.LNP处理和T细胞扩增

[1043] 通常如实施例1中所阐述制备LNP。本实施例中的脂质纳米颗粒是以35脂质A:47.5胆固醇:15DSPC:2.5PEG2k-DMG的摩尔比来制备。LNP是以脂质胺对RNA磷酸酯(N:P)摩尔比为约6来制得。如表22中所阐述,LNP是以单一RNA货品来配制或与多种RNA种类共配制。如表23中和下文所阐述,将LNP递送至含有ApoE3(Peprotech,目录号350-02)的TCAM培养基中的T细胞。

[1044] 表22.脂质纳米颗粒。货品质量比分别按货品栏中的顺序列示。以每单位体积总

RNA货品的质量来衡量剂量。

[1045]

LNP	剂量(ug/ml)	货品	货品质量比
1	0.84	SpBC22n mRNA	n/a
2	0.42	UGI mRNA	n/a
3	1.67	TRAC G023520 + TRBC G023524 + HLA-A G023523 + CIITA G023521	1: 1.9 : 14.5 : 4.8
4	1.25	Nme2Cas9 mRNA + TRAC G021469	1:2
5	0.65	SpCas9 mRNA + CIITA G013675	1:1
6	1.00	SpCas9 mRNA + TRAC G013006	1:1
7	0.65	SpCas9 mRNA + HLA-A G018995	1:1
8	1.00	SpCas9 mRNA + TRBC G016239	1:1

[1046] 解冻后24小时(第1天),收获细胞并用TransAct™(1∶100稀释,Miltenyi Biotec)活化。按照表23中所提供的时间表,以表22中所列示的剂量来施加LNP。在处理之间,使细胞在37℃下温育。如表23中所指示,在第3天,组C、组D和组E用$3x10^5$个GC/细胞的AAV处理,以递送编码转基因T细胞受体的同源定向修复模板,同时递送LNP处理和0.25uM化合物1。将T细胞以1E6个细胞/mL的密度接种以进行活化(第1天),并且在第3天至第5天的整个编辑期间保持$0.5x10^6$/细胞/mL的密度。

[1047] 表23.T细胞工程化的编辑顺序

[1048]

处理	第 1 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
组 A 未编辑	无	无	无	无
组 B 同时 Sp 碱基编辑器	无	LNP1	无	无
	无	LNP2	无	无
	无	LNP3	无	无
组 C 同时 Sp 碱基编辑器+ Nme2Cas9 插入	无	LNP1	无	无
	无	LNP2	无	无
	无	LNP3	无	无
	无	LNP4	无	无
	无	AVV: TCR	无	无
组 D 同时 SpCas9	无	LNP5	无	无
	无	LNP6	无	无
	无	LNP7	无	无
	无	LNP8	无	无
	无	AAV: TCR	无	无
组 E 连续 SpCas9	LNP5	LNP6	LNP7	LNP8
	无	AAV: TCR	无	无

[1049] 对于组A、组B、组C和组D在第5天并且对于组E在第6天,洗涤细胞并转移至6孔GREX板(Wilson Wolf)。在第7天和第10天更换培养基。使用CellacaMX(Nexcelom)对细胞进行计数,并且通过将细胞产量除以在第1天活化的起始材料来计算倍数扩增。表24和图9显示活化后的细胞扩增。在扩增9天后,与同时多重裂解组D和连续多重裂解组E相比,具有四个经由碱基编辑的基因破坏和用于插入的单一DNA裂解的组C显示出优约五倍的细胞扩增。

[1050] 表24-扩增培养基中在所指示的生长期后的细胞群体扩增。

[1051]

天	组 A		组 B		组 C		组 D		组 E	
	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
1	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0
3	1.5	0.1	1.5	0.1	1.5	0.2	1.4	0.0	1.2	0.1
5	10.8	1.2	8.0	0.8	4.0	0.7	2.7	0.5	2.9	0.6
8	118.8	13.6	108.4	20.2	57.6	7.6	13.1	4.2	10.6	7.0
9	202.2	9.9	186.2	28.9	120.4	17.2	24.4	6.6	22.1	13.9
11							54.0	16.1	63.4	38.9

[1052] 在扩增生长的第9天或第11天,收获细胞并通过流式细胞术进行分析。对于流式细胞分析,在FACS缓冲液(PBS+2%FBS+2mM EDTA)中洗涤细胞。使工程化T细胞在靶向CD4(Biolegend 317434)、CD8(Biolegend 301046)、CD3(Biolegend 300430)、Vb8(Biolegend 348104)、HLA-A2(Biolegend 343320)或HLA-A3(Fisher 50-112-3136)和HLA-DR,DP,DQ(Biolegend 361712)的抗体混合液中温育。随后洗涤T细胞,并且在Cytoflex仪器(Beckman Coulter)上进行分析。使用FlowJo软件包(第10.6.1版)实施数据分析。针对大小、单细胞、

CD4或CD8表达和表25中所指示的标志物表达对T细胞进行门控。流式细胞术数据示于表25和图10A至图10B中。Vb8+水平指示组C、组D和组E中转基因TCR的插入和表达。与组A相比，HLA-DR,DP,DQ-细胞的增加指示组B、组C、组D和组E中的高效CIITA破坏,原因在于CIITA是控制这些表面蛋白质表达的转录因子。与组A相比,组B、组C、组D和组E中HLA-A-群体的增加指示高效HLA-A破坏。与组A相比,组B、组C、组D和组E中CD3+Vb8-的减少指示TRAC和TRBC基因座的高效破坏。以HLA-A-、HLA-DR/DP/DQ-、CD3+、Vb8+对完全编辑产物的百分比进行门控。

[1053] 表25.展示细胞表面表型的T细胞的平均百分比

[1054]

T细胞类型	其他标志物	组A		组B		组C		组D		组E	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
CD4+	HLA-A-	0.3	0.3	99.5	0.3	99.9	0.2	95.0	5.1	95.4	4.7

[1055]

T细胞类型	其他标志物	组A		组B		组C		组D		组E	
		平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD	平均值	SD
	HLA-DR/DP/DQ-	50.5	15.2	97.6	1.0	98.7	0.8	97.8	0.4	98.9	0.4
	CD3+Vb8-	93.7	0.9	0.4	0.5	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.3
	Vb8+	6.0	1.0	0.0	0.0	83.9	7.9	90.6	1.7	88.0	1.9
	HLA-A-、HLA-DR/DP/DQ-、Vb8+、CD3+	0.0	0.0	0.0	0.0	83.2	8.1	84.9	6.8	83.5	6.0
CD8+	HLA-A-	0.3	0.5	99.3	0.3	99.7	0.5	93.6	9.1	95.7	6.1
	HLA-DR/DP/DQ-	23.8	15.3	94.7	3.3	96.6	3.0	94.5	2.2	97.8	0.8
	CD3+Vb8-	94.7	1.5	0.8	0.6	0.1	0.1	0.2	0.3	0.0	0.1
	Vb8+	5.1	1.4	0.1	0.1	82.7	8.4	90.2	1.8	87.1	4.3
	HLA-A-、HLA-DR/DP/DQ-、Vb8+、CD3+	0.0	0.0	0.0	0.1	80.2	9.4	81.2	7.1	82.2	8.6

[1056] 实施例8.正交工程化T细胞的功能表征

[1057] 为评估用正交编辑器工程化的细胞的功能性,分析细胞的编辑、表面蛋白质表达和细胞毒性。

[1058] 实施例8.1.T细胞制备

[1059] 使经分离的冷冻保存T细胞在水浴中解冻,并以1.5x10^6个细胞/mL的密度平铺于含有CTS OpTmizer T细胞扩增SFM和T细胞扩增补充物(ThermoFisher,目录号A1048501)、1X青霉素-链霉素、1X Glutamax、10mM HEPES、200U/mL重组人类白介素-2(Peprotech,目录号200-02)、5ng/ml重组人类白介素7(Peprotech,目录号200-07)和5ng/ml重组人类白介素15(Peprotech,目录号200-15)和2.5％人类AB血清(GeminiBio,目录号100-512)的TCAM培养基中。

[1060] 实施例8.2.T细胞工程化

[1061] 通常如实施例1中所阐述制备LNP。本实施例中的脂质纳米颗粒是以35脂质A:47.5胆固醇:15DSPC:2.5PEG2k-DMG的摩尔比来制备。LNP是以脂质胺对RNA磷酸酯(N:P)摩尔比

为约6来制得。如表26中所阐述,LNP是以单一RNA种类来配制或与多种RNA种类共配制。如表27中和下文所阐述,将LNP递送至含有ApoE3(Peprotech,目录号350-02)的TCAM培养基中的T细胞。

[1062] 表26.脂质纳米颗粒。货品质量比分别按货品栏中的顺序列示。以每单位体积总RNA货品的质量来衡量剂量。

[1063]

LNP	剂量 (ug/ml)	货品	货品质量比
1	0.25	Spy BC22 mRNA	n/a
2	0.5	UGI mRNA	n/a
3	1.67	TRAC G027891 TRBC G027904 CIITA G028535 HLA-A G028536	4.5/8.7/21.4/65.4
4	1.25	Nme2Cas9 mRNA + TRAC G021469	1:2

[1064] 在第1天(例如解冻后24小时),收获细胞并用TransAct™(1∶100稀释,Miltenyi Biotec)活化。在第3天,以表26中所列示的剂量将LNP施加至如表27中所列示的处理组。组C样品在进行LNP处理的同时用3E+5GC/mL编码转基因T细胞受体的AAV(具有HD1插入的AAV1760)和0.5uM化合物1处理。

[1065] 表27T细胞工程化的编辑方案。

[1066]

处理	第 3 天
组 A 未编辑	无
组 B Sp 碱基编辑器	LNP1
	LNP2
	LNP3
组 C Sp 碱基编辑器+ Nme2 Cas9 插入	LNP1
	LNP2
	LNP3
	LNP4
	AAV

[1067] 在第4天,将细胞转移至含有T细胞扩增培养基(TCEM)的6孔GREX板(Wilson Wolf)中,所述扩增培养基为补充有5%人类AB血清、1X GlutaMAX(Thermofisher,目录号35050061)、10mM HEPES、200U/mL IL-2(Peprotech,目录号200-02)、IL-7(Peprotech,目录号200-07)和IL-15(Peprotech,目录号200-15)的CTS OpTmizer(Thermofisher,目录号A3705001)。定期更换培养基。在第7天,收获一部分细胞,用于TRBC1、TRBC2和CIITA基因座处的测序分析。如实施例1中所阐述,以三个技术重复实施NGS分析。表28和图11A至图11C显示这些细胞的平均编辑百分比。

[1068] 表28.平均编辑百分比。“Cas9”指示对于Nme2Cas9具有特异性的向导。“BE”指示针对SpyBC22n碱基编辑器所设计的向导。“n/a”指示标准偏差不适用。

[1069]

编辑	处理	C 至 T			C 至 A/G			插入/缺失		
		平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n
G027891 TRAC BE	组 A	0.3	0.1	5	0.7	0.1	5	0.2	0.0	5
	组 B	94.5	0.8	5	2.2	0.2	5	1.8	0.5	5
	组 C	95.3	1.0	6	1.9	0.4	6	0.9	0.2	6
G027904 TRBC1 BE	组 A	0.3	0.1	3	1.6	0.1	3	0.2	0.0	3
	组 B	92.9	1.2	3	5.6	0.5	3	1.2	0.7	3
	组 C	90.8	3.1	4	6.5	3.1	4	1.6	1.9	4
G027904 TRBC2 BE	组 A	0.3	0.3	4	1.9	0.2	3	0.2	0.0	3
	组 B	89.6	1.8	4	7.0	3.0	4	1.5	0.8	4
	组 C	90.5	3.9	5	6.9	2.8	5	1.6	1.7	5
G028535 CIITA BE	组 A	0.3	n/a	1	2.8	1.4	3	1.2	1.0	3
	组 B	92.3	0.1	2	2.6	1.6	4	1.3	1.4	4
	组 C	92.9	0.6	3	3.9	0.1	3	1.6	0.6	3

[1070] 在第11天,使用Cellaca MX(Nexcelom)以三个技术重复对细胞进行计数,并且在第3天通过将细胞产量除以经编辑细胞的量来计算倍数扩增。表29显示倍数细胞扩增。

[1071] 表29.细胞群体的倍数扩增。

[1072]

处理	倍数	SD	n
组 A	218	12	6

[1073]

组 B	173	9	6
组 C	110	4	6

[1074] 实施例8.3流式细胞术

[1075] 在第11天,收获细胞以用于通过流式细胞术进行分析(三个技术重复)。对于流式细胞分析,在FACS缓冲液(PBS+2%FBS+2mM EDTA)中洗涤细胞。使工程化T细胞在靶向CD4(Biolegend 317434)、CD8(Biolegend 301046)、CD3(Biolegend 300430)、Vb8(Biolegend 348104)、HLA-A2(Biolegend 343320)、HLA-A3(Thermo Fisher Scientific,501122136)、HLA-DR,DP,DQ(Biolegend 361712)、CD45RA(Biolegend,304134)、CD45RO(Biolegend,304230)、CD62L(Biolegend,304820)、CCR7(Biolegend,353214)的抗体与ViaKrome 808可固定活力染料(Beckman Coulter,C36628)的混合液中温育。随后洗涤T细胞,并在Cytoflex仪器(Beckman Coulter)上进行分析。使用FlowJo软件包(第10.6.1版)实施数据分析。针对大小、活力、CD4或CD8表达和表30中所指示的标志物表达对T细胞进行门控。CD8+细胞的流式细胞术数据示于表30以及图12A至图12B和图13A至图13C中。CD4+细胞的结果与CD8+细胞类似。与未编辑的对照组A相比,组B和组C中HLA-A2-、HLA-A3-和HLA-DP,DQ,DQ-细胞群体分别指示HLA-A基因座和CIITA基因座的高效破坏。为测定由TRAC和TRBC基因座编辑引起的内源性TCR破坏(在表30和图12A中称为“CD3-”),从100%减去表达内源性TCR的细胞(CD3+Vb8-)%。与组A和组B相比,组C中Vb8+细胞群体的增加指示转基因TCR的有效插入。表30和图13A至图13C中所示的组A与组C之间CD45RA+和CD45RO+表型的相似性指示,工程化细胞的中枢记忆细胞、中枢记忆干细胞和效应记忆表型是完整的。

[1076] 表30.展示细胞表面表型的CD8+T细胞的平均百分比。

[1077]

表型	处理	平均值	SD	n
“CD3-”	组 A	4.1	2.5	6

表型	处理	平均值	SD	n
(100%-CD3+Vb8-)	组 B	99.1	0.1	6
	组 C	99.5	0.0	6
HLA-DP, DQ, DR-	组 A	29.2	2.8	6
	组 B	94.9	0.3	6
	组 C	95.9	0.1	6
HLA-A2-	组 A	1.5	0.4	6
	组 B	98.2	0.2	6
	组 C	100.0	0.0	6
HLA-A3-	组 A	2.4	1.5	6
	组 B	98.5	0.1	6
	组 C	99.2	0.1	6
Vb8+	组 A	5.6	0.3	6
	组 B	0.0	0.0	6
	组 C	76.4	0.3	6
CD45RA+CCR7-CD62L+	组 A	12.8	1.3	6
	组 B	4.4	5.2	6
	组 C	12.1	0.3	6
CD45RA+CCR7+CD62L+	组 A	32.1	2.9	6
	组 B	36.9	24.1	6
	组 C	39.9	1.3	6
CD45RO+CCR7-CD62L+	组 A	29.2	1.0	6
	组 B	16.3	14.0	6
	组 C	18.5	0.4	6
CD45RO+CCR7+CD62L+	组 A	17.7	1.5	6
	组 B	22.3	17.6	6
	组 C	22.8	0.7	6
CD45RO+CCR7+CD62L-	组 A	0.5	0.2	6
	组 B	5.1	8.4	6
	组 C	1.3	0.1	6
CD45RO+CCR7-CD62L-	组 A	1.4	0.5	6
	组 B	2.6	4.3	6
	组 C	3.3	0.1	6

[1078]

[1079] 实施例8.4.基于荧光素酶的细胞毒性分析

[1080] 使处理组C细胞解冻并培养过夜。将细胞与697Luc GFP+细胞以表31中所指示的效应物对靶标比率共培养。在不含细胞因子的培养基中实施共培养,所述培养基由CTS

OpTmizerT细胞扩增SFM和T细胞扩增补充物(ThermoFisher,目录号A1048501)、2.5%人类AB血清(GeminiBio,目录号100-512)、1X青霉素-链霉素、1XGlutamax和10mM HEPES构成。

[1081] 24小时和48小时后,通过Bright-Glo测定(Promega,目录号E2620),遵循制造商的说明测量由活697细胞产生的荧光素酶的量,所述量与工程化T细胞毒性成反比。使用CLARIOstar Plus(BMG LabTech系列号430-4346)读板仪测量发光。特异性杀伤百分比计算为100%-(100*实验孔发光/平均仅靶标孔发光)。表31和图14显示在各种效应物对靶标比率下的平均细胞杀伤百分比。

[1082] 表31.工程化T细胞的平均靶细胞杀伤百分比。

[1083]

	24 小时			48 小时		
E:T	平均值	SD	n	平均值	SD	n
4:1	79.7	0.7	3	98.2	9.6	3
2:1	65.4	2.2	3	95.4	4.3	3
1:1	46.1	2.1	3	82.2	5.9	3
1:2	41.1	2.2	3	65.0	2.8	3
1:4	35.6	1.2	3	59.7	6.1	3
1:8	12.2	0.9	3	38.2	1.6	3
1:16	10.3	1.1	3	34.7	1.2	3
1:32	3.9	2.1	3	28.7	1.3	3
仅靶标	1.5	1.7	3	-0.3	2.0	3

[1084] 实施例9.使用SpCas9和Nme2碱基编辑器对所选向导的编辑

[1085] 为评估使用SpyCas9和Nme2碱基编辑器对所选向导的编辑,通过流式细胞术和NGS评价工程化细胞。本实施例包括所选向导浓度和Nme2 BC22mRNA浓度。

[1086] 实施例9.1.T细胞制备

[1087] 使经分离的冷冻保存T细胞在水浴中解冻,并且以$1x10^6$个细胞/mL的密度平铺于含有CTS OpTmizer T细胞扩增SFM和T细胞扩增补充物(ThermoFisher,目录号A1048501)、1X青霉素-链霉素、1X Glutamax、10mM HEPES、200U/mL重组人类白介素-2(Peprotech,目录号200-02)、5ng/mL重组人类白介素7(Peprotech,目录号200-07)和5ng/mL重组人类白介素15(Peprotech,目录号200-15)和2.5%人类AB血清(GeminiBio,目录号100-512)的TCAM培养基中。使用来自多名供体的经分离T细胞制备技术重复。所示数据来自选定供体。

[1088] 实施例9.2.T细胞工程化

[1089] 通常如实施例1中所阐述制备LNP。本实施例中的脂质纳米颗粒是以35脂质A:47.5胆固醇:15DSPC:2.5PEG2k-DMG的摩尔比来制备。LNP是以脂质胺对RNA磷酸酯(N:P)摩尔比为约6来制得。如表32中所阐述,LNP是以单一RNA种类来配制或与多种RNA种类共配制。如表32中所阐述,将LNP递送至含有ApoE3(Peprotech,目录号350-02)的TCAM培养基中的T细胞。

[1090] 表32.脂质纳米颗粒。货品质量比分别按货品栏中的顺序列示。以每单位体积总RNA货品的质量来衡量剂量。

[1091]

LNP	剂量(ug/ml)	货品	货品质量比
1	-	NmeBC22n mRNA	n/a
2	0.5	UGI mRNA	n/a
3	0.32	G028986(TRBC)	n/a
4	0.68	G026584 (CIITA)	n/a
5	0.21	G028907 (HLA-A/HLA-B)	n/a
6	1	SpyCas9 mRNA + G013006 (TRAC)	1:1

[1092] 在第1天(例如解冻后约24小时),收获细胞并用TransAct™(1:100稀释,Miltenyi Biotec)活化。在第3天,以表32中所列示的剂量施加LNP以及0.5uM化合物1。

[1093] 在第4天开始,细胞分裂并且定期更换培养基。在第7天,收获一部分细胞,用于TRAC、TRBC1、TRBC2和CIITA基因座处的测序分析。如实施例1中所阐述实施NGS分析。表33和图15显示这些细胞的平均编辑百分比。

[1094] 表33.平均编辑百分比。

[1095]

向导	BE mRNA	C至T			C至A/G			插入/缺失		
		平均值	SD	n	平均值	SD	n	平均值	SD	n
G013006 TRAC Cas9	1.0 ug/mL	4.9	0.6	3	0.2	0.1	3	91.4	1.9	3
	0.5 ug/mL	5.0	3.4	3	0.2	0.1	3	87.2	12.0	3
G028986 TRBC1 BE	1.0 ug/mL	93.3	1.5	3	0.9	0.5	3	1.0	1.4	3
	0.5 ug/mL	94.4	0.2	3	1.0	0.6	3	0.3	0.3	3
G026584 CIITA BE	1.0 ug/mL	91.6	0.8	3	1.4	0.2	3	0.6	0.3	3
	0.5 ug/mL	91.8	1.3	3	1.2	0.3	3	0.9	0.2	3

[1096] 实施例9.3流式细胞术

[1097] 在第9天,收获细胞以用于通过流式细胞术进行分析。对于流式细胞分析,在FACS缓冲液(PBS+2%FBS+2mM EDTA)中洗涤细胞。使工程化T细胞在靶向CD4(Biolegend 317434)、CD8(Biolegend 301046)、CD3(Biolegend 300430)、HLA-A2(Biolegend 343320)、HLA-B7(Miltenyi Biotec,130-120-234)、HLA-DR,DP,DQ(Biolegend 361712)的抗体与ViaKrome 808可固定活力染料(Beckman Coulter,C36628)的混合液中温育。随后洗涤T细胞,并且在Cytoflex仪器(Beckman Coulter)上进行分析。使用FlowJo软件包(第10.6.1版)实施数据分析。针对活的单细胞、CD8+表达和表34中所指示的标志物表达对T细胞进行门控。CD8+细胞的流式细胞术数据示于表34和图16中。CD3-、HLA-A2-、HLA-B7-和HLA-DP,DQ,DQ-细胞群体分别指示TRAC、TRBC1以及TRBC2基因座、HLA-A基因座、HLA-B基因座和CIITA基因座的高效破坏。

[1098] 表34.表面蛋白质表达呈阴性的CD8+T细胞的平均百分比。

[1099]

表型	0.5 ug/ml Nme2 BC22 mRNA			1.0 ug/ml Nme2 BC22 mRNA		
	平均值	SD	n	平均值	SD	n
CD3-	99	0	3	99	0	3
HLA-A-	95	1	3	94	0	3
HLA-B7-	60	1	3	58	1	3
HLA-DP, DQ, DR-	98	1	3	98	0	3

[1100] 序列表

[1101] 在下表中,术语“mA”、“mC”、“mU”或“mG”用于表示经2′-O-Me修饰的核苷酸。

[1102] 在下表中,每个“N”用于独立地表示任何核苷酸(例如A、U、T、C、G)。在某些实施方案中,核苷酸为未经修饰的RNA核苷酸残基,即核糖和磷酸二酯主链。

[1103] 在下表中,“*”用于表示PS修饰。在本申请中,术语A*、C*、U*或G*可用于表示以PS键与下一(例如3′)核苷酸连接的核苷酸。

[1104] 应理解,如果关于RNA提及DNA序列(包含T),则T应经U(其可根据情形经修饰或经未修饰)置换,并且反之亦然。

[1105] 在下表中,使用单一氨基酸字母代码提供肽序列。

[1106]

SEQ ID NO	说明	序列
1	编码 SpyCas9 BC22n 的 mRNA	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGAGGCCUCCCCCG CCUCCGGCCCCCGGCACCUGAUGGACCCCC ACAUCUUCACCUCCAACUUCAACAACGGCA UCGGCCGGCACAAGACCUACCUGUGCUACG AGGUGGAGCGGCUGGACAACGGCACCUCCG UGAAGAUGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGC ACAACCAGGCCAAGAACCUGCUGUGCGGCU UCUACGGCCGGCACGCCGAGCUGCGGUUCC UGGACCUGGUGCCCUCCCUGCAGCUGGACC CCGCCCAGAUCUACCGGGUGACCUGGUUCA UCUCCUGGUCCCCCUGCUUCUCCUGGGGCU GCGCCGGCGAGGUGCGGGCCUUCCUGCAGG AGAACACCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCG

[1107]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCGCCCGGAUCUACGACUACGACCCCCUGU
		ACAAGGAGGCCCUGCAGAUGCUGCGGGACG
		CCGGCGCCCAGGUGUCCAUCAUGACCUACG
		ACGAGUUCAAGCACUGCUGGGACACCUUCG
		UGGACCACCAGGGCUGCCCCUUCCAGCCCU
		GGGACGGCCUGGACGAGCACUCCCAGGCCC
		UGUCCGGCCGGCUGCGGGCCAUCCUGCAGA
		ACCAGGGCAACUCCGGCUCCGAGACCCCCG
		GCACCUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCG
		ACAAGAAGUACUCCAUCGGCCUGGCCAUCG
		GCACCAACUCCGUGGGCUGGGCCGUGAUCA
		CCGACGAGUACAAGGUGCCCUCCAAGAAGU
		UCAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGCACU
		CCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCCCUGC
		UGUUCGACUCCGGCGAGACCGCCGAGGCCA
		CCCGGCUGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGU
		ACACCCGGCGGAAGAACCGGAUCUGCUACC
		UGCAGGAGAUCUUCUCCAACGAGAUGGCCA
		AGGUGGACGACUCCUUCUUCCACCGGCUGG
		AGGAGUCCUUCCUGGUGGAGGAGGACAAG
		AAGCACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGCAAC
		AUCGUGGACGAGGUGGCCUACCACGAGAAG
		UACCCCACCAUCUACCACCUGCGGAAGAAG
		CUGGUGGACUCCACCGACAAGGCCGACCUG
		CGGCUGAUCUACCUGGCCCUGGCCCACAUG
		AUCAAGUUCCGGGGCCACUUCCUGAUCGAG
		GGCGACCUGAACCCCGACAACUCCGACGUG
		GACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACC
		UACAACCAGCUGUUCGAGGAGAACCCCAUC
		AACGCCUCCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUC
		CUGUCCGCCCGGCUGUCCAAGUCCCGGCGG
		CUGGAGAACCUGAUCGCCCAGCUGCCCGGC
		GAGAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAACCUG
		AUCGCCCUGUCCCUGGGCCUGACCCCCAAC
		UUCAAGUCCAACUUCGACCUGGCCGAGGAC
		GCCAAGCUGCAGCUGUCCAAGGACACCUAC
		GACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCCAG
		AUCGGCGACCAGUACGCCGACCUGUUCCUG
		GCCGCCAAGAACCUGUCCGACGCCAUCCUG
		CUGUCCGACAUCCUGCGGGUGAACACCGAG
		AUCACCAAGGCCCCCCUGUCCGCCUCCAUG
		AUCAAGCGGUACGACGAGCACCACCAGGAC
		CUGACCCUGCUGAAGGCCCUGGUGCGGCAG
		CAGCUGCCCGAGAAGUACAAGGAGAUCUUC
		UUCGACCAGUCCAAGAACGGCUACGCCGGC
		UACAUCGACGGCGGCGCCUCCCAGGAGGAG
		UUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUGGAG
		AAGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUG

[1108]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGCUGAACCGGGAGGACCUGCUGCGGAAG
		CAGCGGACCUUCGACAACGGCUCCAUCCCC
		CACCAGAUCCACCUGGGCGAGCUGCACGCC
		AUCCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCC
		UUCCUGAAGGACAACCGGGAGAAGAUCGAG
		AAGAUCCUGACCUUCCGGAUCCCCUACUAC
		GUGGGCCCCCUGGCCCGGGGCAACUCCCGG
		UUCGCCUGGAUGACCCGGAAGUCCGAGGAG
		ACCAUCACCCCCUGGAACUUCGAGGAGGUG
		GUGGACAAGGGCGCCUCCGCCCAGUCCUUC
		AUCGAGCGGAUGACCAACUUCGACAAGAAC
		CUGCCCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAGCAC
		UCCCUGCUGUACGAGUACUUCACCGUGUAC
		AACGAGCUGACCAAGGUGAAGUACGUGACC
		GAGGGCAUGCGGAAGCCCGCCUUCCUGUCC
		GGCGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUG
		CUGUUCAAGACCAACCGGAAGGUGACCGUG
		AAGCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAAGAA
		GAUCGAGUGCUUCGACUCCGUGGAGAUCUC
		CGGCGUGGAGGACCGGUUCAACGCCUCCCU
		GGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAU
		CAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGA
		GAACGAGGACAUCCUGGAGGACAUCGUGCU
		GACCCUGACCCUGUUCGAGGACCGGGAGAU
		GAUCGAGGAGCGGCUGAAGACCUACGCCCA
		CCUGUUCGACGACAAGGUGAUGAAGCAGCU
		GAAGCGGCGGCGGUACACCGGCUGGGGCCG
		GCUGUCCCGGAAGCUGAUCAACGGCAUCCG
		GGACAAGCAGUCCGGCAAGACCAUCCUGGA
		CUUCCUGAAGUCCGACGGCUUCGCCAACCG
		GAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACUC
		CCUGACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAAGGC
		CCAGGUGUCCGGCCAGGGCGACUCCCUGCA
		CGAGCACAUCGCCAACCUGGCCGGCUCCCC
		CGCCAUCAAGAAGGGCAUCCUGCAGACCGU
		GAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGA
		UGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACAUCGUGA
		UCGAGAUGGCCCGGGAGAACCAGACCACCC
		AGAAGGGCCAGAAGAACUCCCGGGAGCGGA
		UGAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUCAAGGAG
		CUGGGCUCCCAGAUCCUGAAGGAGCACCCC
		GUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAGAAG
		CUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCCGG
		GACAUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUC
		AACCGGCUGUCCGACUACGACGUGGACCAC
		AUCGUGCCCCAGUCCUUCCUGAAGGACGAC
		UCCAUCGACAACAAGGUGCUGACCCGGUCC
		GACAAGAACCGGGGCAAGUCCGACAACGUG

[1109]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCCUCCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAUGAA
		GAACUACUGGCGGCAGCUGCUGAACGCCAA
		GCUGAUCACCCAGCGGAAGUUCGACAACCU
		GACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGUCCGA
		GCUGGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGCGGCA
		GCUGGUGGAGACCCGGCAGAUCACCAAGCA
		CGUGGCCCAGAUCCUGGACUCCCGGAUGAA
		CACCAAGUACGACGAGAACGACAAGCUGAU
		CCGGGAGGUGAAGGUGAUCACCCUGAAGUC
		CAAGCUGGUGUCCGACUUCCGGAAGGACUU
		CCAGUUCUACAAGGUGCGGGAGAUCAACAA
		CUACCACCACGCCCACGACGCCUACCUGAA
		CGCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUCAAGAA
		GUACCCCAAGCUGGAGUCCGAGUUCGUGUA
		CGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGGAA
		GAUGAUCGCCAAGUCCGAGCAGGAGAUCGG
		CAAGGCCACCGCCAAGUACUUCUUCUACUC
		CAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAU
		CACCCUGGCCAACGGCGAGAUCCGGAAGCG
		GCCCCUGAUCGAGACCAACGGCGAGACCGG
		CGAGAUCGUGUGGGACAAGGGCCGGGACUU
		CGCCACCGUGCGGAAGGUGCUGUCCAUGCC
		CCAGGUGAACAUCGUGAAGAAGACCGAGGU
		GCAGACCGGCGGCUUCUCCAAGGAGUCCAU
		CCUGCCCAAGCGGAACUCCGACAAGCUGAU
		CGCCCGGAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAA
		GUACGGCGGCUUCGACUCCCCCACCGUGGC
		CUACUCCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGA
		GAAGGGCAAGUCCAAGAAGCUGAAGUCCGU
		GAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGA
		GCGGUCCUCCUUCGAGAAGAACCCCAUCGA
		CUUCCUGGAGGCCAAGGGCUACAAGGAGGU
		GAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCAA
		GUACUCCCUGUUCGAGCUGGAGAACGGCCG
		GAAGCGGAUGCUGGCCUCCGCCGGCGAGCU
		GCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCUGCCCUC
		CAAGUACGUGAACUUCCUGUACCUGGCCUC
		CCACUACGAGAAGCUGAAGGGCUCCCCCGA
		GGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGA
		GCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAU
		CGAGCAGAUCUCCGAGUUCUCCAAGCGGGU
		GAUCCUGGCCGACGCCAACCUGGACAAGGU
		GCUGUCCGCCUACAACAAGCACCGGGACAA
		GCCCAUCCGGGAGCAGGCCGAGAACAUCAU
		CCACCUGUUCACCCUGACCAACCUGGGCGC
		CCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACACCAC
		CAUCGACCGGAAGCGGUACACCUCCACCAA
		GGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCCACCA

[1110]

SEQ ID NO	说明	序列
		GUCCAUCACCGGCCUGUACGAGACCCGGAU CGACCUGUCCCAGCUGGGCGGCGACGGCGG CGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUG ACUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUG GAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUAC ACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUA GCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAA AGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAA AAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAA AAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAA AAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAA AAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUCAAAAA AAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAAAA AAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAGGGAAA AAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAA AAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAUCGA AAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAACGA AAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAGAC AAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAAGU UAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAU UUAAAAAAAAAAAAUCUAG
2	BC22n 的开放阅读框	AUGGAGGCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGG CACCUGAUGGACCCCCACAUCUUCACCUCC AACUUCAACAACGGCAUCGGCCGGCACAAG ACCUACCUGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUG GACAACGGCACCUCCGUGAAGAUGGACCAG CACCGGGGCUUCCUGCACAACCAGGCCAAG AACCUGCUGUGCGGCUUCUACGGCCGGCAC GCCGAGCUGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCC UCCCUGCAGCUGGACCCCGCCCAGAUCUAC CGGGUGACCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCC UGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUG CGGGCCUUCCUGCAGGAGAACACCCACGUG CGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUAC GACUACGACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUG CAGAUGCUGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUG UCCAUCAUGACCUACGACGAGUUCAAGCAC UGCUGGGACACCUUCGUGGACCACCAGGGC UGCCCCUUCCAGCCCUGGGACGGCCUGGAC GAGCACUCCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUG CGGGCCAUCCUGCAGAACCAGGGCAACUCC GGCUCCGAGACCCCCGGCACCUCCGAGUCC GCCACCCCCGAGUCCGACAAGAAGUACUCC AUCGGCCUGGCCAUCGGCACCAACUCCGUG GGCUGGGCCGUGAUCACCGACGAGUACAAG GUGCCCUCCAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGC AACACCGACCGGCACUCCAUCAAGAAGAAC CUGAUCGGCGCCCUGCUGUUCGACUCCGGC

[1111]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAGACCGCCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGG
		ACCGCCCGGCGGCGGUACACCCGGCGGAAG
		AACCGGAUCUGCUACCUGCAGGAGAUCUUC
		UCCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACUCC
		UUCUUCCACCGGCUGGAGGAGUCCUUCCUG
		GUGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCAC
		CCCAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUG
		GCCUACCACGAGAAGUACCCCACCAUCUAC
		CACCUGCGGAAGAAGCUGGUGGACUCCACC
		GACAAGGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUG
		GCCCUGGCCCACAUGAUCAAGUUCCGGGGC
		CACUUCCUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCC
		GACAACUCCGACGUGGACAAGCUGUUCAUC
		CAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGCUGUUC
		GAGGAGAACCCCAUCAACGCCUCCGGCGUG
		GACGCCAAGGCCAUCCUGUCCGCCCGGCUG
		UCCAAGUCCCGGCGGCUGGAGAACCUGAUC
		GCCCAGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGC
		CUGUUCGGCAACCUGAUCGCCCUGUCCCUG
		GGCCUGACCCCCAACUUCAAGUCCAACUUC
		GACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUG
		UCCAAGGACACCUACGACGACGACCUGGAC
		AACCUGCUGGCCCAGAUCGGCGACCAGUAC
		GCCGACCUGUUCCUGGCCGCCAAGAACCUG
		UCCGACGCCAUCCUGCUGUCCGACAUCCUG
		CGGGUGAACACCGAGAUCACCAAGGCCCCC
		CUGUCCGCCUCCAUGAUCAAGCGGUACGAC
		GAGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAG
		GCCCUGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGAGAAG
		UACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGUCCAAG
		AACGGCUACGCCGGCUACAUCGACGGCGGC
		GCCUCCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCAUC
		AAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACC
		GAGGAGCUGCUGGUGAAGCUGAACCGGGA
		GGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACCUUCGA
		CAACGGCUCCAUCCCCCACCAGAUCCACCU
		GGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGCGGCGGCA
		GGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAA
		CCGGGAGAAGAUCGAGAAGAUCCUGACCUU
		CCGGAUCCCCUACUACGUGGGCCCCCUGGC
		CCGGGGCAACUCCCGGUUCGCCUGGAUGAC
		CCGGAAGUCCGAGGAGACCAUCACCCCCUG
		GAACUUCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCG
		CCUCCGCCCAGUCCUUCAUCGAGCGGAUGA
		CCAACUUCGACAAGAACCUGCCCAACGAGA
		AGGUGCUGCCCAAGCACUCCCUGCUGUACG
		AGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGACCA
		AGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGCGG

[1112]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGCCCGCCUUCCUGUCCGGCGAGCAGAAG
		AAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACC
		AACCGGAAGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAG
		GAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUC
		GACUCCGUGGAGAUCUCCGGCGUGGAGGAC
		CGGUUCAACGCCUCCCUGGGCACCUACCAC
		GACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGAC
		UUCCUGGACAACGAGGAGAACGAGGACAUC
		CUGGAGGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUG
		UUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGCG
		GCUGAAGACCUACGCCCACCUGUUCGACGA
		CAAGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCG
		GUACACCGGCUGGGGCCGGCUGUCCCGGAA
		GCUGAUCAACGGCAUCCGGGACAAGCAGUC
		CGGCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGAAGUC
		CGACGGCUUCGCCAACCGGAACUUCAUGCA
		GCUGAUCCACGACGACUCCCUGACCUUCAA
		GGAGGACAUCCAGAAGGCCCAGGUGUCCGG
		CCAGGGCGACUCCCUGCACGAGCACAUCGC
		CAACCUGGCCGGCUCCCCCGCCAUCAAGAA
		GGGCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGGA
		CGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAA
		GCCCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCCG
		GGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAA
		GAACUCCCGGGAGCGGAUGAAGCGGAUCGA
		GGAGGGCAUCAAGGAGCUGGGCUCCCAGAU
		CCUGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCA
		GCUGCAGAACGAGAAGCUGUACCUGUACUA
		CCUGCAGAACGGCCGGGACAUGUACGUGGA
		CCAGGAGCUGGACAUCAACCGGCUGUCCGA
		CUACGACGUGGACCACAUCGUGCCCCAGUC
		CUUCCUGAAGGACGACUCCAUCGACAACAA
		GGUGCUGACCCGGUCCGACAAGAACCGGGG
		CAAGUCCGACAACGUGCCCUCCGAGGAGGU
		GGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGC
		AGCUGCUGAACGCCAAGCUGAUCACCCAGC
		GGAAGUUCGACAACCUGACCAAGGCCGAGC
		GGGGCGGCCUGUCCGAGCUGGACAAGGCCG
		GCUUCAUCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACCC
		GGCAGAUCACCAAGCACGUGGCCCAGAUCC
		UGGACUCCCGGAUGAACACCAAGUACGACG
		AGAACGACAAGCUGAUCCGGGAGGUGAAG
		GUGAUCACCCUGAAGUCCAAGCUGGUGUCC
		GACUUCCGGAAGGACUUCCAGUUCUACAAG
		GUGCGGGAGAUCAACAACUACCACCACGCC
		CACGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGC
		ACCGCCCUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUG
		GAGUCCGAGUUCGUGUACGGCGACUACAAG

[1113]

SEQ ID NO	说明	序列
		GUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUCGCCAAG UCCGAGCAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCC AAGUACUUCUUCUACUCCAACAUCAUGAAC UUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUGGCCAAC GGCGAGAUCCGGAAGCGGCCCCUGAUCGAG ACCAACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGG GACAAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGG AAGGUGCUGUCCAUGCCCCAGGUGAACAUC GUGAAGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGC UUCUCCAAGGAGUCCAUCCUGCCCAAGCGG AACUCCGACAAGCUGAUCGCCCGGAAGAAG GACUGGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUC GACUCCCCCACCGUGGCCUACUCCGUGCUG GUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGCAAGUC CAAGAAGCUGAAGUCCGUGAAGGAGCUGCU GGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGUCCUCCUU CGAGAAGAACCCCAUCGACUUCCUGGAGGC CAAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACC UGAUCAUCAAGCUGCCCAAGUACUCCCUGU UCGAGCUGGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGC UGGCCUCCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCA ACGAGCUGGCCCUGCCCUCCAAGUACGUGA ACUUCCUGUACCUGGCCUCCCACUACGAGA AGCUGAAGGGCUCCCCCGAGGACAACGAGC AGAAGCAGCUGUUCGUGGAGCAGCACAAGC ACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCU CCGAGUUCUCCAAGCGGGUGAUCCUGGCCG ACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGUCCGCCU ACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAUCCGGG AGCAGGCCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCA CCCUGACCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCU UCAAGUACUUCGACACCACCAUCGACCGGA AGCGGUACACCUCCACCAAGGAGGUGCUGG ACGCCACCCUGAUCCACCAGUCCAUCACCG GCCUGUACGAGACCCGGAUCGACCUGUCCC AGCUGGGCGGCGACGGCGGCGGCUCCCCCA AGAAGAAGCGGAAGGUGUGA
3	BC22n 的氨基酸序列	MEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYL CYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLC GFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTWFIS WSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARI YDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKH CWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLR AILQNQGNSGSETPGTSESATPESDKKYSIGLAI GTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSI KKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRK NRICYLQEIFSNEMAKVDDSFFHRLEESFLVEE DKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKL

[1114]

SEQ ID NO	说明	序列
		VDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLN PDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDA KAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNL IALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDD LDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILR VNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVR QQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEF YKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTF DNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNRE KIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEE TITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLP NEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMR KPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKED YFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKII KDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEER LKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKL INGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHD DSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPA IKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMA RENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILK EHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQEL DINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSD KNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLI TQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVET RQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVIT LKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYL NAVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRK MIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLAN GEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVL SMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLI ARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEK GKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLEAK GYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASA GELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILA DANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLT NLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIH QSITGLYETRIDLSQLGGDGGGSPKKKRKV
4	编码带有 Hibit 标签的 BC22n 的 mRNA	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGAGGCCUCCCCCG CCUCCGGCCCCCGGCACCUGAUGGACCCCC ACAUCUUCACCUCCAACUUCAACAACGGCA UCGGCCGGCACAAGACCUACCUGUGCUACG AGGUGGAGCGGCUGGACAACGGCACCUCCG UGAAGAUGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGC ACAACCAGGCCAAGAACCUGCUGUGCGGCU UCUACGGCCGGCACGCCGAGCUGCGGUUCC UGGACCUGGUGCCCUCCCUGCAGCUGGACC

[1115]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCGCCCAGAUCUACCGGGUGACCUGGUUCA
		UCUCCUGGUCCCCCUGCUUCUCCUGGGGCU
		GCGCCGGCGAGGUGCGGGCCUUCCUGCAGG
		AGAACACCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCG
		CCGCCCGGAUCUACGACUACGACCCCCUGU
		ACAAGGAGGCCCUGCAGAUGCUGCGGGACG
		CCGGCGCCCAGGUGUCCAUCAUGACCUACG
		ACGAGUUCAAGCACUGCUGGGACACCUUCG
		UGGACCACCAGGGCUGCCCCUUCCAGCCCU
		GGGACGGCCUGGACGAGCACUCCCAGGCCC
		UGUCCGGCCGGCUGCGGGCCAUCCUGCAGA
		ACCAGGGCAACUCCGGCUCCGAGACCCCCG
		GCACCUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCG
		ACAAGAAGUACUCCAUCGGCCUGGCCAUCG
		GCACCAACUCCGUGGGCUGGGCCGUGAUCA
		CCGACGAGUACAAGGUGCCCUCCAAGAAGU
		UCAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGCACU
		CCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCCCUGC
		UGUUCGACUCCGGCGAGACCGCCGAGGCCA
		CCCGGCUGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGU
		ACACCCGGCGGAAGAACCGGAUCUGCUACC
		UGCAGGAGAUCUUCUCCAACGAGAUGGCCA
		AGGUGGACGACUCCUUCUUCCACCGGCUGG
		AGGAGUCCUUCCUGGUGGAGGAGGACAAG
		AAGCACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGCAAC
		AUCGUGGACGAGGUGGCCUACCACGAGAAG
		UACCCCACCAUCUACCACCUGCGGAAGAAG
		CUGGUGGACUCCACCGACAAGGCCGACCUG
		CGGCUGAUCUACCUGGCCCUGGCCCACAUG
		AUCAAGUUCCGGGGCCACUUCCUGAUCGAG
		GGCGACCUGAACCCCGACAACUCCGACGUG
		GACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACC
		UACAACCAGCUGUUCGAGGAGAACCCCAUC
		AACGCCUCCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUC
		CUGUCCGCCCGGCUGUCCAAGUCCCGGCGG
		CUGGAGAACCUGAUCGCCCAGCUGCCCGGC
		GAGAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAACCUG
		AUCGCCCUGUCCCUGGGCCUGACCCCCAAC
		UUCAAGUCCAACUUCGACCUGGCCGAGGAC
		GCCAAGCUGCAGCUGUCCAAGGACACCUAC
		GACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCCAG
		AUCGGCGACCAGUACGCCGACCUGUUCCUG
		GCCGCCAAGAACCUGUCCGACGCCAUCCUG
		CUGUCCGACAUCCUGCGGGUGAACACCGAG
		AUCACCAAGGCCCCCCUGUCCGCCUCCAUG
		AUCAAGCGGUACGACGAGCACCACCAGGAC
		CUGACCCUGCUGAAGGCCCUGGUGCGGCAG
		CAGCUGCCCGAGAAGUACAAGGAGAUCUUC

[1116]

SEQ ID NO	说明	序列
		UUCGACCAGUCCAAGAACGGCUACGCCGGC
		UACAUCGACGGCGGCGCCUCCCAGGAGGAG
		UUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUGGAG
		AAGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUG
		AAGCUGAACCGGGAGGACCUGCUGCGGAAG
		CAGCGGACCUUCGACAACGGCUCCAUCCCC
		CACCAGAUCCACCUGGGCGAGCUGCACGCC
		AUCCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCC
		UUCCUGAAGGACAACCGGGAGAAGAUCGAG
		AAGAUCCUGACCUUCCGGAUCCCCUACUAC
		GUGGGCCCCCUGGCCCGGGGCAACUCCCGG
		UUCGCCUGGAUGACCCGGAAGUCCGAGGAG
		ACCAUCACCCCCUGGAACUUCGAGGAGGUG
		GUGGACAAGGGCGCCUCCGCCCAGUCCUUC
		AUCGAGCGGAUGACCAACUUCGACAAGAAC
		CUGCCCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAGCAC
		UCCCUGCUGUACGAGUACUUCACCGUGUAC
		AACGAGCUGACCAAGGUGAAGUACGUGACC
		GAGGGCAUGCGGAAGCCCGCCUUCCUGUCC
		GGCGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUG
		CUGUUCAAGACCAACCGGAAGGUGACCGUG
		AAGCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAAGAA
		GAUCGAGUGCUUCGACUCCGUGGAGAUCUC
		CGGCGUGGAGGACCGGUUCAACGCCUCCCU
		GGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAU
		CAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGA
		GAACGAGGACAUCCUGGAGGACAUCGUGCU
		GACCCUGACCCUGUUCGAGGACCGGGAGAU
		GAUCGAGGAGCGGCUGAAGACCUACGCCCA
		CCUGUUCGACGACAAGGUGAUGAAGCAGCU
		GAAGCGGCGGCGGUACACCGGCUGGGGCCG
		GCUGUCCCGGAAGCUGAUCAACGGCAUCCG
		GGACAAGCAGUCCGGCAAGACCAUCCUGGA
		CUUCCUGAAGUCCGACGGCUUCGCCAACCG
		GAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACUC
		CCUGACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAAGGC
		CCAGGUGUCCGGCCAGGGCGACUCCCUGCA
		CGAGCACAUCGCCAACCUGGCCGGCUCCCC
		CGCCAUCAAGAAGGGCAUCCUGCAGACCGU
		GAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGA
		UGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACAUCGUGA
		UCGAGAUGGCCCGGGAGAACCAGACCACCC
		AGAAGGGCCAGAAGAACUCCCGGGAGCGGA
		UGAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUCAAGGAG
		CUGGGCUCCCAGAUCCUGAAGGAGCACCCC
		GUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAGAAG
		CUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCCGG
		GACAUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUC

[1117]

SEQ ID NO	说明	序列
		AACCGGCUGUCCGACUACGACGUGGACCAC
		AUCGUGCCCCAGUCCUUCCUGAAGGACGAC
		UCCAUCGACAACAAGGUGCUGACCCGGUCC
		GACAAGAACCGGGGCAAGUCCGACAACGUG
		CCCUCCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAUGAA
		GAACUACUGGCGGCAGCUGCUGAACGCCAA
		GCUGAUCACCCAGCGGAAGUUCGACAACCU
		GACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGUCCGA
		GCUGGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGCGGCA
		GCUGGUGGAGACCCGGCAGAUCACCAAGCA
		CGUGGCCCAGAUCCUGGACUCCCGGAUGAA
		CACCAAGUACGACGAGAACGACAAGCUGAU
		CCGGGAGGUGAAGGUGAUCACCCUGAAGUC
		CAAGCUGGUGUCCGACUUCCGGAAGGACUU
		CCAGUUCUACAAGGUGCGGGAGAUCAACAA
		CUACCACCACGCCCACGACGCCUACCUGAA
		CGCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUCAAGAA
		GUACCCCAAGCUGGAGUCCGAGUUCGUGUA
		CGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGGAA
		GAUGAUCGCCAAGUCCGAGCAGGAGAUCGG
		CAAGGCCACCGCCAAGUACUUCUUCUACUC
		CAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAU
		CACCCUGGCCAACGGCGAGAUCCGGAAGCG
		GCCCCUGAUCGAGACCAACGGCGAGACCGG
		CGAGAUCGUGUGGGACAAGGGCCGGGACUU
		CGCCACCGUGCGGAAGGUGCUGUCCAUGCC
		CCAGGUGAACAUCGUGAAGAAGACCGAGGU
		GCAGACCGGCGGCUUCUCCAAGGAGUCCAU
		CCUGCCCAAGCGGAACUCCGACAAGCUGAU
		CGCCCGGAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAA
		GUACGGCGGCUUCGACUCCCCCACCGUGGC
		CUACUCCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGA
		GAAGGGCAAGUCCAAGAAGCUGAAGUCCGU
		GAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGA
		GCGGUCCUCCUUCGAGAAGAACCCCAUCGA
		CUUCCUGGAGGCCAAGGGCUACAAGGAGGU
		GAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCAA
		GUACUCCCUGUUCGAGCUGGAGAACGGCCG
		GAAGCGGAUGCUGGCCUCCGCCGGCGAGCU
		GCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCUGCCCUC
		CAAGUACGUGAACUUCCUGUACCUGGCCUC
		CCACUACGAGAAGCUGAAGGGCUCCCCCGA
		GGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGA
		GCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAU
		CGAGCAGAUCUCCGAGUUCUCCAAGCGGGU
		GAUCCUGGCCGACGCCAACCUGGACAAGGU
		GCUGUCCGCCUACAACAAGCACCGGGACAA
		GCCCAUCCGGGAGCAGGCCGAGAACAUCAU

[1118]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCACCUGUUCACCCUGACCAACCUGGGCGC CCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACACCAC CAUCGACCGGAAGCGGUACACCUCCACCAA GGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCCACCA GUCCAUCACCGGCCUGUACGAGACCCGGAU CGACCUGUCCCAGCUGGGCGGCGACGGCGG CGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUC CGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGG CUGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUGACU AGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAG UCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACU UUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCC AUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAG UUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAA AAUGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAA AAAGGUAAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAA AAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAA AAAACGUAAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAA AAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAA AAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAA AAAAAAACGCAAAAAAAAAAAAACACAAAA AAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAAUCGAAA AAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAAACGAAA AAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAA AAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAAAGUUA AAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAAUUU AAAAAAAAAAAAUCUAG
5	带有 Hibit 标签的 BC22n 的开放阅读框	AUGGAGGCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGG CACCUGAUGGACCCCCACAUCUUCACCUCC AACUUCAACAACGGCAUCGGCCGGCACAAG ACCUACCUGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUG GACAACGGCACCUCCGUGAAGAUGGACCAG CACCGGGGCUUCCUGCACAACCAGGCCAAG AACCUGCUGUGCGGCUUCUACGGCCGGCAC GCCGAGCUGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCC UCCCUGCAGCUGGACCCCGCCCAGAUCUAC CGGGUGACCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCC UGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUG CGGGCCUUCCUGCAGGAGAACACCCACGUG CGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUAC GACUACGACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUG CAGAUGCUGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUG UCCAUCAUGACCUACGACGAGUUCAAGCAC UGCUGGGACACCUUCGUGGACCACCAGGGC UGCCCCUUCCAGCCCUGGGACGGCCUGGAC GAGCACUCCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUG CGGGCCAUCCUGCAGAACCAGGGCAACUCC GGCUCCGAGACCCCCGGCACCUCCGAGUCC

[1119]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCCACCCCCGAGUCCGACAAGAAGUACUCC
		AUCGGCCUGGCCAUCGGCACCAACUCCGUG
		GGCUGGGCCGUGAUCACCGACGAGUACAAG
		GUGCCCUCCAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGC
		AACACCGACCGGCACUCCAUCAAGAAGAAC
		CUGAUCGGCGCCCUGCUGUUCGACUCCGGC
		GAGACCGCCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGG
		ACCGCCCGGCGGCGGUACACCCGGCGGAAG
		AACCGGAUCUGCUACCUGCAGGAGAUCUUC
		UCCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACUCC
		UUCUUCCACCGGCUGGAGGAGUCCUUCCUG
		GUGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCAC
		CCCAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUG
		GCCUACCACGAGAAGUACCCCACCAUCUAC
		CACCUGCGGAAGAAGCUGGUGGACUCCACC
		GACAAGGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUG
		GCCCUGGCCCACAUGAUCAAGUUCCGGGGC
		CACUUCCUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCC
		GACAACUCCGACGUGGACAAGCUGUUCAUC
		CAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGCUGUUC
		GAGGAGAACCCCAUCAACGCCUCCGGCGUG
		GACGCCAAGGCCAUCCUGUCCGCCCGGCUG
		UCCAAGUCCCGGCGGCUGGAGAACCUGAUC
		GCCCAGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGC
		CUGUUCGGCAACCUGAUCGCCCUGUCCCUG
		GGCCUGACCCCCAACUUCAAGUCCAACUUC
		GACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUG
		UCCAAGGACACCUACGACGACGACCUGGAC
		AACCUGCUGGCCCAGAUCGGCGACCAGUAC
		GCCGACCUGUUCCUGGCCGCCAAGAACCUG
		UCCGACGCCAUCCUGCUGUCCGACAUCCUG
		CGGGUGAACACCGAGAUCACCAAGGCCCCC
		CUGUCCGCCUCCAUGAUCAAGCGGUACGAC
		GAGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAG
		GCCCUGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGAGAAG
		UACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGUCCAAG
		AACGGCUACGCCGGCUACAUCGACGGCGGC
		GCCUCCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCAUC
		AAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACC
		GAGGAGCUGCUGGUGAAGCUGAACCGGGA
		GGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACCUUCGA
		CAACGGCUCCAUCCCCCACCAGAUCCACCU
		GGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGCGGCGGCA
		GGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAA
		CCGGGAGAAGAUCGAGAAGAUCCUGACCUU
		CCGGAUCCCCUACUACGUGGGCCCCCUGGC
		CCGGGGCAACUCCCGGUUCGCCUGGAUGAC
		CCGGAAGUCCGAGGAGACCAUCACCCCCUG

[1120]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAACUUCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCG
		CCUCCGCCCAGUCCUUCAUCGAGCGGAUGA
		CCAACUUCGACAAGAACCUGCCCAACGAGA
		AGGUGCUGCCCAAGCACUCCCUGCUGUACG
		AGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGACCA
		AGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGCGG
		AAGCCCGCCUUCCUGUCCGGCGAGCAGAAG
		AAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACC
		AACCGGAAGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAG
		GAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUC
		GACUCCGUGGAGAUCUCCGGCGUGGAGGAC
		CGGUUCAACGCCUCCCCUGGGCACCUACCAC
		GACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGAC
		UUCCUGGACAACGAGGAGAACGAGGACAUC
		CUGGAGGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUG
		UUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGCG
		GCUGAAGACCUACGCCCACCUGUUCGACGA
		CAAGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCG
		GUACACCGGCUGGGGCCGGCUGUCCCGGAA
		GCUGAUCAACGGCAUCCGGGACAAGCAGUC
		CGGCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGAAGUC
		CGACGGCUUCGCCAACCGGAACUUCAUGCA
		GCUGAUCCACGACGACUCCCUGACCUUCAA
		GGAGGACAUCCAGAAGGCCCAGGUGUCCGG
		CCAGGGCGACUCCCUGCACGAGCACAUCGC
		CAACCUGGCCGGCUCCCCCGCCAUCAAGAA
		GGGCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGGA
		CGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAA
		GCCCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCCG
		GGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAA
		GAACUCCCGGGAGCGGAUGAAGCGGAUCGA
		GGAGGGCAUCAAGGAGCUGGGCUCCCAGAU
		CCUGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCA
		GCUGCAGAACGAGAAGCUGUACCUGUACUA
		CCUGCAGAACGGCCGGGACAUGUACGUGGA
		CCAGGAGCUGGACAUCAACCGGCUGUCCGA
		CUACGACGUGGACCACAUCGUGCCCCAGUC
		CUUCCUGAAGGACGACUCCAUCGACAACAA
		GGUGCUGACCCGGUCCGACAAGAACCGGGG
		CAAGUCCGACAACGUGCCCUCCGAGGAGGU
		GGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGC
		AGCUGCUGAACGCCAAGCUGAUCACCCAGC
		GGAAGUUCGACAACCUGACCAAGGCCGAGC
		GGGGCGGCCUGUCCGAGCUGGACAAGGCCG
		GCUUCAUCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACCC
		GGCAGAUCACCAAGCACGUGGCCCAGAUCC
		UGGACUCCCGGAUGAACACCAAGUACGACG
		AGAACGACAAGCUGAUCCGGGAGGUGAAG

[1121]

SEQ ID NO	说明	序列
		GUGAUCACCCUGAAGUCCAAGCUGGUGUCC GACUUCCGGAAGGACUUCCAGUUCUACAAG GUGCGGGAGAUCAACAACUACCACCACGCC CACGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGC ACCGCCCUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUG GAGUCCGAGUUCGUGUACGGCGACUACAAG GUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUCGCCAAG UCCGAGCAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCC AAGUACUUCUUCUACUCCAACAUCAUGAAC UUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUGGCCAAC GGCGAGAUCCGGAAGCGGCCCCUGAUCGAG ACCAACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGG GACAAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGG AAGGUGCUGUCCAUGCCCCAGGUGAACAUC GUGAAGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGC UUCUCCAAGGAGUCCAUCCUGCCCAAGCGG AACUCCGACAAGCUGAUCGCCCGGAAGAAG GACUGGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUC GACUCCCCCACCGUGGCCUACUCCGUGCUG GUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGCAAGUC CAAGAAGCUGAAGUCCGUGAAGGAGCUGCU GGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGUCCUCCUU CGAGAAGAACCCCAUCGACUUCCUGGAGGC CAAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACC UGAUCAUCAAGCUGCCCAAGUACUCCCUGU UCGAGCUGGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGC UGGCCUCCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCA ACGAGCUGGCCCUGCCCUCCAAGUACGUGA ACUUCCUGUACCUGGCCUCCCACUACGAGA AGCUGAAGGGCUCCCCCGAGGACAACGAGC AGAAGCAGCUGUUCGUGGAGCAGCACAAGC ACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCU CCGAGUUCUCCAAGCGGGUGAUCCUGGCCG ACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGUCCGCCU ACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAUCCGGG AGCAGGCCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCA CCCUGACCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCU UCAAGUACUUCGACACCACCAUCGACCGGA AGCGGUACACCUCCACCAAGGAGGUGCUGG ACGCCACCCUGAUCCACCAGUCCAUCACCG GCCUGUACGAGACCCGGAUCGACCUGUCCC AGCUGGGCGGCGACGGCGGCGGCUCCCCCA AGAAGAAGCGGAAGGUGUCCGAGUCCGCCA CCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGU UCAAGAAGAUCUCCUGA
6	带有 Hibit 标签的 BC22n 的氨基酸序	MEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYL CYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLC GFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTWFIS

[1122]

SEQ ID NO	说明	序列
	列	WSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARI YDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKH CWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLR AILQNQGNSGSETPGTSESATPESDKKYSIGLAI GTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSI KKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRK NRICYLQEIFSNEMAKVDDSFFHRLEESFLVEE DKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKL VDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLN PDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDA KAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNL IALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDD LDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILR VNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVR QQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEF YKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTF DNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNRE KIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEE TITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLP NEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMR KPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKED YFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKII KDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEER LKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKL INGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHD DSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPA IKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMA RENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILK EHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQEL DINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSD KNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLI TQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVET RQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVIT LKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYL NAVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRK MIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLAN GEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVL SMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLI ARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEK GKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLEAK GYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASA GELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILA DANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLT NLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIH QSITGLYETRIDLSQLGGDGGGSPKKKRKVSES ATPESVSGWRLFKKIS
7	编码 BE3 的	GGGAGACCCAAGCUGGCUAGCGUUUAAACU

[1123]

SEQ ID NO	说明	序列
	mRNA	UAAGCUUUCCCGCAGUCGGCGUCCAGCGGC UCUGCUUGUUCGUGUGUGUGUCGUUGCAG GCCUUAUUCGGAUCCGCCACCAUGAGCAGC GAAACAGGACCGGUCGCAGUCGACCCGACA CUGAGAAGAAGAAUCGAACCGCACGAAUUC GAAGUCUUCUUCGACCCGAGAGAACUGAGA AAGGAAACAUGCCUGCUGUACGAAAUCAAC UGGGGAGGAAGACACAGCAUCUGGAGACAC ACAAGCCAGAACACAAACAAGCACGUCGAA GUCAACUUCAUCGAAAAGUUCACAACAGAA AGAUACUUCUGCCCGAACACAAGAUGCAGC AUCACAUGGUUCCUGAGCUGGAGCCCGUGC GGAGAAUGCAGCAGAGCAAUCACAGAAUUC CUGAGCAGAUACCCGCACGUCACACUGUUC AUCUACAUCGCAAGACUGUACCACCACGCA GACCCGAGAAACAGACAGGGACUGAGAGAC CUGAUCAGCAGCGGAGUCACAAUCCAGAUC AUGACAGAACAGGAAAGCGGAUACUGCUG GAGAAACUUCGUCAACUACAGCCCGAGCAA CGAAGCACACUGGCCGAGAUACCCGCACCU GUGGGUCAGACUGUACGUCCUGGAACUGUA CUGCAUCAUCCUGGGACUGCCGCCGUGCCU GAACAUCCUGAGAAGAAAGCAGCCGCAGCU GACAUUCUUCACAAUCGCACUGCAGAGCUG CCACUACCAGAGACUGCCGCCGCACAUCCU GUGGGCAACAGGACUGAAGAGCGGAAGCG AAACACCGGGAACAAGCGAAAGCGCAACAC CGGAAAGCGACAAGAAGUACAGCAUCGGAC UGGCCAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGG CAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGA GCAAGAAGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAG ACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCG GAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAG CAGAAGCAACAAGACUGAAGAGAACAGCAA GAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGA AUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAAC GAAAUGGCAAAGGUCGACGACAGCUUCUUC CACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAA GAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUC UUCGGAAACAUCGUCGACGAAGUCGCAUAC CACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUG AGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAG GCAGACCUGAGACUGAUCUACCUGGCACUG GCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUC CUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAAC AGCGACGUCGACAAGCUGUUCAUCCAGCUG GUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAA AACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCA

[1124]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGGCAAUCCUGAGCGCAAGACUGAGCAAG
		AGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAG
		CUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUC
		GGAAACCUGAUCGCACUGAGCCUGGGACUG
		ACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUG
		GCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAG
		GACACAUACGACGACGACCUGGACAACCUG
		CUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGAC
		CUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGAC
		GCAAUCCUGCUGAGCGACAUCCUGAGAGUC
		AACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGC
		GCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACAC
		CACCAGGACCUGACACUGCUGAAGGCACUG
		GUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAG
		GAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGA
		UACGCAGGAUACAUCGACGGAGGAGCAAGC
		CAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCG
		AUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGA
		ACUGCUGGUCAAGCUGAACAGAGAAGACCU
		GCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGG
		AAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGA
		ACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACAGGAAGA
		CUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGA
		AAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAA
		UCCCGUACUACGUCGGACCGCUGGCAAGAG
		GAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGA
		AAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAAC
		UUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAAGC
		GCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAAC
		UUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUC
		CUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUAC
		UUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUC
		AAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCC
		GGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGC
		AAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAG
		AAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAG
		ACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACA
		GCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAU
		UCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACC
		UGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCC
		UGGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGG
		AAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCG
		AAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUG
		AAGACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAG
		GUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUA
		CACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGC
		UGAUCAACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCG
		GAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCG

[1125]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGC
		UGAUCCACGACGACAGCCUGACAUUCAAGG
		AAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGAC
		AGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAA
		ACCUGGCAGGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGG
		GAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACG
		AACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGC
		CGGAAAACAUCGUCAUCGAAAUGGCAAGAG
		AAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGA
		ACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAA
		GAAGGAAUCAAGGAACUGGGAAGCCAGAU
		CCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACA
		GCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUA
		CCUGCAGAACGGAAGAGACAUGUACGUCGA
		CCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGA
		CUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAG
		CUUCCUGAAGGACGACAGCAUCGACAACAA
		GGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGG
		AAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGU
		CGUCAAGAAGAUGAAGAACUACUGGAGAC
		AGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGA
		GAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGA
		GAGGAGGACUGAGCGAACUGGACAAGGCA
		GGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACA
		AGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUC
		CUGGACAGCAGAAUGAACACAAAGUACGAC
		GAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAA
		GGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAG
		CGACUUCAGAAAGGACUUCCAGUUCUACAA
		GGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGC
		ACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGG
		AACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCGAAGCU
		GGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAA
		GGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAA
		GAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAACAGC
		AAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAA
		CUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAA
		CGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAUCGA
		AACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCU
		GGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCA
		GAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAACA
		UCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAG
		GAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGA
		GAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGA
		AGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGA
		UUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUC
		CUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAA
		GAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAAC

[1126]

SEQ ID NO	说明	序列
		UGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGC AGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUG GAAGCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAA GGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAG CCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGA GAAUGCUGGCAAGCGCAGGAGAACUGCAGA AGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGU ACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACU ACGAAAAGCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACA ACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGC ACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAAC AGAUCAGCGAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCC UGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGA GCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGA UCAGAGAACAGGCAGAAAACAUCAUCCACC UGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGG CAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCG ACAGAAAGAGAUACACAAGCACAAAGGAA GUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGC AUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGAU CUGAGCCAGCUGGGAGGAGACAGCGGAGGA AGCACAAACCUGAGCGACAUCAUCGAAAAG GAAACAGGAAAGCAGCUGGUCAUCCAGGAA AGCAUCCUGAUGCUGCCGGAAGAAGUCGAA GAAGUCAUCGGAAACAAGCCGGAAAGCGAC AUCCUGGUCCACACAGCAUACGACGAAAGC ACAGACGAAAACGUCAUGCUGCUGACAAGC GACGCACCGGAAUACAAGCCGUGGGCACUG GUCAUCCAGGACAGCAACGGAGAAAACAAG AUCAAGAUGCUGAGCGGAGGAAGCCCGAAG AAGAAGAGAAAGGUCUAAUAGUCUAGACA UCACAUUUAAAAGCAUCUCAGCCUACCAUG AGAAUAAGAGAAAGAAAAUGAAGAUCAAU AGCUUAUUCAUCUCUUUUUCUUUUUCGUUG GUGUAAAGCCAACACCCUGUCUAAAAAACA UAAAUUUCUUUAAUCAUUUUGCCUCUUUUC UCUGUGCUUCAAUUAAUAAAAAAUGGAAA GAACCUCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAGCGAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAACCGAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAU
8	BE3 的开放阅读框	AUGAGCAGCGAAACAGGACCGGUCGCAGUC GACCCGACACUGAGAAGAAGAAUCGAACCG CACGAAUUCGAAGUCUUCUUCGACCCGAGA GAACUGAGAAAGGAAACAUGCCUGCUGUAC GAAAUCAACUGGGGAGGAAGACACAGCAUC UGGAGACACACAAGCCAGAACACAAACAAG CACGUCGAAGUCAACUUCAUCGAAAAGUUC

[1127]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACAACAGAAAGAUACUUCUGCCCGAACACA
		AGAUGCAGCAUCACAUGGUUCCUGAGCUGG
		AGCCCGUGCGGAGAAUGCAGCAGAGCAAUC
		ACAGAAUUCCUGAGCAGAUACCCGCACGUC
		ACACUGUUCAUCUACAUCGCAAGACUGUAC
		CACCACGCAGACCCGAGAAACAGACAGGGA
		CUGAGAGACCUGAUCAGCAGCGGAGUCACA
		AUCCAGAUCAUGACAGAACAGGAAAGCGGA
		UACUGCUGGAGAAACUUCGUCAACUACAGC
		CCGAGCAACGAAGCACACUGGCCGAGAUAC
		CCGCACCUGUGGGUCAGACUGUACGUCCUG
		GAACUGUACUGCAUCAUCCUGGGACUGCCG
		CCGUGCCUGAACAUCCUGAGAAGAAAGCAG
		CCGCAGCUGACAUUCUUCACAAUCGCACUG
		CAGAGCUGCCACUACCAGAGACUGCCGCCG
		CACAUCCUGUGGGCAACAGGACUGAAGAGC
		GGAAGCGAAACACCGGGAACAAGCGAAAGC
		GCAACACCGGAAAGCGACAAGAAGUACAGC
		AUCGGACUGGCCAUCGGAACAAACAGCGUC
		GGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAG
		GUCCCGAGCAAGAAGUUCAAGGUCCUGGGA
		AACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAAC
		CUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGA
		GAAACAGCAGAAGCAACAAGACUGAAGAG
		AACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAA
		AGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCU
		UCAGCAACGAAAUGGCAAAGGUCGACGACA
		GCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCC
		UGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGA
		CACCCGAUCUUCGGAAACAUCGUCGACGAA
		GUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUC
		UACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGC
		ACAGACAAGGCAGACCUGAGACUGAUCUAC
		CUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGA
		GGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAAC
		CCGGACAACAGCGACGUCGACAAGCUGUUC
		AUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUG
		UUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGA
		GUCGACGCAAAGGCAAUCCUGAGCGCAAGA
		CUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUG
		AUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAAC
		GGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACUGAGC
		CUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAAC
		UUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAG
		CUGAGCAAGGACACAUACGACGACGACCUG
		GACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAG
		UACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAAC
		CUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACAUC

[1128]

SEQ ID NO	说明	序列
		CUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCA CCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUAC GACGAACACCACCAGGACCUGACACUGCUG AAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAA AAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGC AAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGA GGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUC AUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGA ACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGA GAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUC GACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCAC CUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGA CAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGAC AACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGAC AUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCU GGCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGA UGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACAC CGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGG GAGCAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAA UGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACG AAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGU ACGAAUACUUCACAGUCUACAACGAACUGA CAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUG AGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAG AAGAAGGCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAG ACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUG AAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUG CUUCGACAGCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGA AGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUA CCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAA GGACUUCCUGGACAACGAAGAAAACGAAGA CAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGAC ACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAG AAAGACUGAAGACAUACGCACACCUGUUCG ACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGA AGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAG CAGAAAGCUGAUCAACGGAAUCAGAGACAA GCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCU GAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUU CAUGCAGCUGAUCCACGACGACAGCCUGAC AUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGU CAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACA CAUCGCAAACCUGGCAGGAAGCCCGGCAAU CAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGU CGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAG ACACAAGCCGGAAAACAUCGUCAUCGAAAU GGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGG ACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGA

[1129]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAAUCGAAGAAGGAAUCAAGGAACUGGGA
		AGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAA
		AACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUAC
		CUGUACUACCUGCAGAACGGAAGAGACAUG
		UACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGA
		CUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUC
		CCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGACAGCAUC
		GACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAG
		AACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGC
		GAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAACUA
		CUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAU
		CACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAA
		GGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAACUGG
		ACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGG
		UCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCG
		CACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAA
		AGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAG
		AAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGC
		UGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAGU
		UCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACC
		ACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAG
		UCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACC
		CGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAG
		ACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGA
		UCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAG
		GCAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAAC
		AUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACA
		CUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCG
		CUGAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGA
		AAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGC
		AACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCA
		GGUCAACAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCA
		GACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCU
		GCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGC
		AAGAAAGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGU
		ACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAU
		ACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAA
		AGGGAAAGAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUC
		AAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGA
		AAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGA
		CUUCCUGGAAGCAAAGGGAUACAAGGAAG
		UCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGA
		AGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAA
		GAAAGAGAAUGCUGGCAAGCGCAGGAGAA
		CUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCG
		AGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCA
		AGCCACUACGAAAAGCUGAAGGGAAGCCCG
		GAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUC

[1130]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUC AUCGAACAGAUCAGCGAAUUCAGCAAGAGA GUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAG GUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGAC AAGCCGAUCAGAGAACAGGCAGAAAACAUC AUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGA GCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACA ACAAUCGACAGAAAGAGAUACACAAGCACA AAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCAC CAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGA AUCGAUCUGAGCCAGCUGGGAGGAGACAGC GGAGGAAGCACAAACCUGAGCGACAUCAUC GAAAAGGAAACAGGAAAGCAGCUGGUCAU CCAGGAAAGCAUCCUGAUGCUGCCGGAAGA AGUCGAAGAAGUCAUCGGAAACAAGCCGGA AAGCGACAUCCUGGUCCACACAGCAUACGA CGAAAGCACAGACGAAAACGUCAUGCUGCU GACAAGCGACGCACCGGAAUACAAGCCGUG GGCACUGGUCAUCCAGGACAGCAACGGAGA AAACAAGAUCAAGAUGCUGAGCGGAGGAA GCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUC
9	BE3 的氨基酸序列	MSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRK ETCLLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNF IEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGECSRAI TEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRD LISSGVTIQIMTEQESGYCWRNFVNYSPSNEAH WPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRK QPQLTFFTIALQSCHYQRLPPHILWATGLKSGSE TPGTSESATPESDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITD EYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSG ETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNE MAKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNI VDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLI YLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQ LVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSR RLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFK SNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQ YADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSA SMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFF DQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMD GTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLG ELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYY VGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVD KGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLY EYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKA IVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEI SGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENE DILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV

[1131]

SEQ ID NO	说明	序列
		MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTI LDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQ VSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVD ELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNS RERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIV PQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEV VKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERG GLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRM NTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQF YKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKL ESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKY FFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETG EIVWDKGRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQT GGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGF DSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGIT IMERSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKY SLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYV NFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHY LDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRD KPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDR KRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGG DSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVE EVIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAP EYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSPKKKRKV
10	编码 BE3 的 mRNA	GGGUCCCGCAGUCGGCGUCCAGCGGCUCUG CUUGUUCGUGUGUGUGUCGUUGCAGGCCUU AUUCGGAUCCACCAUGAGCUCAGAGACUGG CCCAGUGGCUGUGGACCCCACAUUGAGACG GCGGAUCGAGCCCCAUGAGUUUGAGGUAUU CUUCGAUCCGAGAGAGCUCCGCAAGGAGAC CUGCCUGCUUUACGAAAUUAAUUGGGGGG GCCGGCACUCCAUUUGGCGACAUACAUCAC AGAACACUAACAAGCACGUCGAAGUCAACU UCAUCGAGAAGUUCACGACAGAAAGAUAU UUCUGUCCGAACACAAGGUGCAGCAUUACC UGGUUUCUCAGCUGGAGCCCAUGCGGCGAA UGUAGUAGGGCCAUCACUGAAUUCCUGUCA AGGUAUCCCCACGUCACUCUGUUUAUUUAC AUCGCAAGGCUGUACCACCACGCUGACCCC CGCAAUCGACAAGGCCUGCGGGAUUUGAUC UCUUCAGGUGUGACUAUCCAAAUUAUGACU GAGCAGGAGUCAGGAUACUGCUGGAGAAA CUUUGUGAAUUAUAGCCCGAGUAAUGAAG CCCACUGGCCUAGGUAUCCCCAUCUGUGGG UACGACUGUACGUUCUUGAACUGUACUGCA UCAUACUGGGCCUGCCUCCUUGUCUCAACA UUCUGAGAAGGAAGCAGCCACAGCUGACAU

[1132]

SEQ ID NO	说明	序列
		UCUUUACCAUCGCUCUUCAGUCUUGUCAUU
		ACCAGCGACUGCCCCCACACAUUCUCUGGG
		CCACCGGGUUGAAAAGCGGCAGCGAGACUC
		CGGGCACCUCAGAGUCCGCCACACCCGAAA
		GUGAUAAGAAGUACUCAAUCGGGCUGGCCA
		UCGGAACUAAUUCCGUGGGUUGGGCAGUG
		AUCACGGAUGAAUACAAAGUGCCGUCCAAG
		AAGUUCAAGGUCCUGGGGAACACCGAUAGA
		CACAGCAUCAAGAAAAAUCUCAUCGGAGCC
		CUGCUGUUUGACUCCGGCGAAACCGCAGAA
		GCGACCCGGCUCAAACGUACCGCGAGGCGA
		CGCUACACCCGGCGGAAGAAUCGCAUCUGC
		UAUCUGCAAGAGAUCUUUUCGAACGAAAU
		GGCAAAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACCG
		CCUGGAAGAAUCUUUCCUGGUGGAGGAGG
		ACAAGAAGCAUGAACGGCAUCCUAUCUUUG
		GAAACAUCGUCGACGAAGUGGCGUACCACG
		AAAAGUACCCGACCAUCUACCAUCUGCGGA
		AGAAGUUGGUUGACUCAACUGACAAGGCCG
		ACCUCAGAUUGAUCUACUUGGCCCUCGCCC
		AUAUGAUCAAAUUCCGCGGACACUUCCUGA
		UCGAAGGCGAUCUGAACCCUGAUAACUCCG
		ACGUGGAUAAGCUUUUCAUUCAACUGGUGC
		AGACCUACAACCAACUGUUCGAAGAAAACC
		CAAUCAAUGCUAGCGGCGUCGAUGCCAAGG
		CCAUCCUGUCCGCCCGGCUGUCGAAGUCGC
		GGCGCCUCGAAAACCUGAUCGCACAGCUGC
		CGGGAGAGAAAAAGAACGGACUUUUCGGC
		AACUUGAUCGCUCUCUCACUGGGACUCACU
		CCCAAUUUCAAGUCCAAUUUUGACCUGGCC
		GAGGACGCGAAGCUGCAACUCUCAAAGGAC
		ACCUACGACGACGACUUGGACAAUUUGCUG
		GCACAAAUUGGCGAUCAGUACGCGGAUCUG
		UUCCUUGCCGCUAAGAACCUUUCGGACGCA
		AUCUUGCUGUCCGAUAUCCUGCGCGUGAAC
		ACCGAAAUAACCAAAGCGCCGCUUAGCGCC
		UCGAUGAUUAAGCGGUACGACGAGCAUCAC
		CAGGAUCUCACGCUGCUCAAAGCGCUCGUG
		AGACAGCAACUGCCUGAAAAGUACAAGGAG
		AUCUUCUUCGACCAGUCCAAGAAUGGGUAC
		GCAGGGUACAUCGAUGGAGGCGCUAGCCAG
		GAAGAGUUCUAUAAGUUCAUCAAGCCAAUC
		CUGGAAAAGAUGGACGGAACCGAAGAACU
		GCUGGUCAAGCUGAACAGGGAGGAUCUGCU
		CCGGAAACAGAGAACCUUUGACAACGGAUC
		CAUUCCCCACCAGAUCCAUCUGGGUGAGCU
		GCACGCCAUCUUGCGGCGCCAGGAGGACUU
		UUACCCAUUCCUCAAGGACAACCGGGAAAA

[1133]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAUCGAGAAAAUUCUGACGUUCCGCAUCCC GUAUUACGUGGGCCCACUGGCGCGCGGCAA UUCGCGCUUCGCGUGGAUGACUAGAAAAUC AGAGGAAACCAUCACUCCUUGGAAUUUCGA GGAAGUUGUGGAUAAGGGAGCUUCGGCAC AAAGCUUCAUCGAACGAAUGACCAACUUCG ACAAGAAUCUCCCAAACGAGAAGGUGCUUC CUAAGCACAGCCUCCUUUACGAAUACUUCA CUGUCUACAACGAACUGACUAAAGUGAAAU ACGUUACUGAAGGAAUGAGGAAGCCGGCCU UUCUGUCCGGAGAACAGAAGAAAGCAAUU GUCGAUCUGCUGUUCAAGACCAACCGCAAG GUGACCGUCAAGCAGCUUAAAGAGGACUAC UUCAAGAAGAUCGAGUGUUUCGACUCAGU GGAAAUCAGCGGGGUGGAGGACAGAUUCA ACGCUUCGCUGGGAACCUAUCAUGAUCUCC UGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUUG ACAACGAGGAGAACGAGGACAUCCUGGAAG AUAUCGUCCUGACCUUGACCCUUUUCGAGG AUCGCGAGAUGAUCGAGGAGAGGCUUAAG ACCUACGCUCAUCUCUUCGACGAUAAGGUC AUGAAACAACUCAAGCGCCGCCGGUACACU GGUUGGGGCCGCCUCUCCCGCAAGCUGAUC AACGGUAUUCGCGAUAAACAGAGCGGUAA AACUAUCCUGGAUUUCCUCAAAUCGGAUGG CUUCGCUAAUCGUAACUUCAUGCAAUUGAU CCACGACGACAGCCUGACCUUUAAGGAGGA CAUCCAAAAAGCACAAGUGUCCGGACAGGG AGACUCACUCCAUGAACACAUCGCGAAUCU GGCCGGUUCGCCGGCGAUUAAGAAGGGAAU UCUGCAAACUGUGAAGGUGGUCGACGAGCU GGUGAAGGUCAUGGGACGGCACAAACCGGA GAAUAUCGUGAUUGAAAUGGCCCGAGAAA ACCAGACUACCCAGAAGGGCCAGAAAAACU CCCGCGAAAGGAUGAAGCGGAUCGAAGAAG GAAUCAAGGAGCUGGGCAGCCAGAUCCUGA AAGAGCACCCGGUGGAAAACACGCAGCUGC AGAACGAGAAGCUCUACCUGUACUAUUUGC AAAAUGGACGGGACAUGUACGUGGACCAA GAGCUGGACAUCAAUCGGUUGUCUGAUUAC GACGUGGACCACAUCGUUCCACAGUCCUUU CUGAAGGAUGACUCGAUCGAUAACAAGGU GUUGACUCGCAGCGACAAGAACAGAGGGAA GUCAGAUAAUGUGCCAUCGGAGGAGGUCG UGAAGAAGAUGAAGAAUUACUGGCGGCAG CUCCUGAAUGCGAAGCUGAUUACCCAGAGA AAGUUUGACAAUCUCACUAAAGCCGAGCGC GGCGGACUCUCAGAGCUGGAUAAGGCUGGA

[1134]

SEQ ID NO	说明	序列
		UUCAUCAAACGGCAGCUGGUCGAGACUCGG
		CAGAUUACCAAGCACGUGGCGCAGAUCUUG
		GACUCCCGCAUGAACACUAAAUACGACGAG
		AACGAUAAGCUCAUCCGGGAAGUGAAGGU
		GAUUACCCUGAAAAGCAAACUUGUGUCGGA
		CUUUCGGAAGGACUUUCAGUUUUACAAAG
		UGAGAGAAAUCAACAACUACCAUCACGCGC
		AUGACGCAUACCUCAACGCUGUGGUCGGUA
		CCGCCCUGAUCAAAAAGUACCCUAAACUUG
		AAUCGGAGUUUGUGUACGGAGACUACAAG
		GUCUACGACGUGAGGAAGAUGAUAGCCAA
		GUCCGAACAGGAAAUCGGGAAAGCAACUGC
		GAAAUACUUCUUUUACUCAAACAUCAUGAA
		CUUUUUCAAGACUGAAAUUACGCUGGCCAA
		UGGAGAAAUCAGGAAGAGGCCACUGAUCG
		AAACUAACGGAGAAACGGGCGAAAUCGUG
		UGGGACAAGGGCAGGGACUUCGCAACUGUU
		CGCAAAGUGCUCUCUAUGCCGCAAGUCAAU
		AUUGUGAAGAAAACCGAAGUGCAAACCGGC
		GGAUUUUCAAAGGAAUCGAUCCUCCCAAAG
		AGAAAUAGCGACAAGCUCAUUGCACGCAAG
		AAAGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGG
		AUUCGAUUCGCCGACUGUCGCAUACUCCGU
		CCUCGUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGAA
		AGAGCAAAAAGCUCAAAUCCGUCAAAGAGC
		UGCUGGGGAUUACCAUCAUGGAACGAUCCU
		CGUUCGAGAAGAACCCGAUUGAUUUCCUCG
		AGGCGAAGGGUUACAAGGAGGUGAAGAAG
		GAUCUGAUCAUCAAACUCCCCAAGUACUCA
		CUGUUCGAACUGGAAAAUGGUCGGAAGCGC
		AUGCUGGCUUCGGCCGGAGAACUCCAAAAA
		GGAAAUGAGCUGGCCUUGCCUAGCAAGUAC
		GUCAACUUCCUCUAUCUUGCUUCGCACUAC
		GAAAAACUCAAAGGGUCACCGGAAGAUAAC
		GAACAGAAGCAGCUUUUCGUGGAGCAGCAC
		AAGCAUUAUCUGGAUGAAAUCAUCGAACA
		AAUCUCCGAGUUUUCAAAGCGCGUGAUCCU
		CGCCGACGCCAACCUCGACAAAGUCCUGUC
		GGCCUACAAUAAGCAUAGAGAUAAGCCGAU
		CAGAGAACAGGCCGAGAACAUUAUCCACUU
		GUUCACCCUGACUAACCUGGGAGCCCCAGC
		CGCCUUCAAGUACUUCGAUACUACUAUCGA
		UCGCAAAAGAUACACGUCCACCAAGGAAGU
		UCUGGACGCGACCCUGAUCCACCAAAGCAU
		CACUGGACUCUACGAAACUAGGAUCGAUCU
		GUCGCAGCUGGGUGGCGAUUCUGGUGGUUC
		UACUAAUCUGUCAGAUAUUAUUGAAAAGG
		AGACCGGUAAGCAACUGGUUAUCCAGGAAU

[1135]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCAUCCUCAUGCUCCCAGAGGAGGUGGAAG AAGUCAUUGGGAACAAGCCGGAAAGCGAU AUACUCGUGCACACCGCCUACGACGAGAGC ACCGACGAGAAUGUCAUGCUUCUGACUAGC GACGCCCCUGAAUACAAGCCUUGGGCUCUG GUCAUACAGGAUAGCAACGGUGAGAACAA GAUUAAGAUGCUCUCUGGUGGUUCUCCCAA GAAGAAGAGGAAAGUCUAAUAGUCUAGCC AUCACAUUUAAAAGCAUCUCAGCCUACCAU GAGAAUAAGAGAAAGAAAAUGAAGAUCAA UAGCUUAUUCAUCUCUUUUUCUUUUUCGUU GGUGUAAAGCCAACACCCUGUCUAAAAAAC AUAAAUUUCUUUAAUCAUUUUGCCUCUUU UCUCUGUGCUUCAAUUAAUAAAAAAUGGA AAGAACCUCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAGCGAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAACCGAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AU
11	BE3 的开放阅读框	AUGAGCUCAGAGACUGGCCCAGUGGCUGUG GACCCCACAUUGAGACGGCGGAUCGAGCCC CAUGAGUUUGAGGUAUUCUUCGAUCCGAG AGAGCUCCGCAAGGAGACCUGCCUGCUUUA CGAAAUUAAUUGGGGGGGCCGGCACUCCAU UUGGCGACAUACAUCACAGAACACUAACAA GCACGUCGAAGUCAACUUCAUCGAGAAGUU CACGACAGAAAGAUAUUUCUGUCCGAACAC AAGGUGCAGCAUUACCUGGUUUCUCAGCUG GAGCCCAUGCGGCGAAUGUAGUAGGGCCAU CACUGAAUUCCUGUCAAGGUAUCCCCACGU CACUCUGUUUAUUUACAUCGCAAGGCUGUA CCACCACGCUGACCCCCGCAAUCGACAAGG CCUGCGGGAUUUGAUCUCUUCAGGUGUGAC UAUCCAAAUUAUGACUGAGCAGGAGUCAG GAUACUGCUGGAGAAACUUUGUGAAUUAU AGCCCGAGUAAUGAAGCCCACUGGCCUAGG UAUCCCCAUCUGUGGGUACGACUGUACGUU CUUGAACUGUACUGCAUCAUACUGGGCCUG CCUCCUUGUCUCAACAUUCUGAGAAGGAAG CAGCCACAGCUGACAUUCUUUACCAUCGCU CUUCAGUCUUGUCAUUACCAGCGACUGCCC CCACACAUUCUCUGGGCCACCGGGUUGAAA AGCGGCAGCGAGACUCCGGGCACCUCAGAG UCCGCCACACCCGAAAGUGAUAAGAAGUAC UCAAUCGGGCUGGCCAUCGGAACUAAUUCC GUGGGUUGGGCAGUGAUCACGGAUGAAUA CAAAGUGCCGUCCAAGAAGUUCAAGGUCCU GGGGAACACCGAUAGACACAGCAUCAAGAA

[1136]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAAUCUCAUCGGAGCCCUGCUGUUUGACUC
		CGGCGAAACCGCAGAAGCGACCCGGCUCAA
		ACGUACCGCGAGGCGACGCUACACCCGGCG
		GAAGAAUCGCAUCUGCUAUCUGCAAGAGAU
		CUUUUCGAACGAAAUGGCAAAGGUCGACGA
		CAGCUUCUUCCACCGCCUGGAAGAAUCUUU
		CCUGGUGGAGGAGGACAAGAAGCAUGAAC
		GGCAUCCUAUCUUUGGAAACAUCGUCGACG
		AAGUGGCGUACCACGAAAAGUACCCGACCA
		UCUACCAUCUGCGGAAGAAGUUGGUUGACU
		CAACUGACAAGGCCGACCUCAGAUUGAUCU
		ACUUGGCCCUCGCCCAUAUGAUCAAAUUCC
		GCGGACACUUCCUGAUCGAAGGCGAUCUGA
		ACCCUGAUAACUCCGACGUGGAUAAGCUUU
		UCAUUCAACUGGUGCAGACCUACAACCAAC
		UGUUCGAAGAAAACCCAAUCAAUGCUAGCG
		GCGUCGAUGCCAAGGCCAUCCUGUCCGCCC
		GGCUGUCGAAGUCGCGGCGCCUCGAAAACC
		UGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAGAAAAAGA
		ACGGACUUUUCGGCAACUUGAUCGCUCUCU
		CACUGGGACUCACUCCCAAUUUCAAGUCCA
		AUUUUGACCUGGCCGAGGACGCGAAGCUGC
		AACUCUCAAAGGACACCUACGACGACGACU
		UGGACAAUUUGCUGGCACAAAUUGGCGAUC
		AGUACGCGGAUCUGUUCCUUGCCGCUAAGA
		ACCUUUCGGACGCAAUCUUGCUGUCCGAUA
		UCCUGCGCGUGAACACCGAAAUAACCAAAG
		CGCCGCUUAGCGCCUCGAUGAUUAAGCGGU
		ACGACGAGCAUCACCAGGAUCUCACGCUGC
		UCAAAGCGCUCGUGAGACAGCAACUGCCUG
		AAAAGUACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGU
		CCAAGAAUGGGUACGCAGGGUACAUCGAUG
		GAGGCGCUAGCCAGGAAGAGUUCUAUAAG
		UUCAUCAAGCCAAUCCUGGAAAAGAUGGAC
		GGAACCGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAAC
		AGGGAGGAUCUGCUCCGGAAACAGAGAACC
		UUUGACAACGGAUCCAUUCCCCACCAGAUC
		CAUCUGGGUGAGCUGCACGCCAUCUUGCGG
		CGCCAGGAGGACUUUUACCCAUUCCUCAAG
		GACAACCGGGAAAAGAUCGAGAAAAUUCU
		GACGUUCCGCAUCCCGUAUUACGUGGGCCC
		ACUGGCGCGCGGCAAUUCGCGCUUCGCGUG
		GAUGACUAGAAAAUCAGAGGAAACCAUCAC
		UCCUUGGAAUUUCGAGGAAGUUGUGGAUA
		AGGGAGCUUCGGCACAAAGCUUCAUCGAAC
		GAAUGACCAACUUCGACAAGAAUCUCCCAA
		ACGAGAAGGUGCUUCCUAAGCACAGCCUCC
		UUUACGAAUACUUCACUGUCUACAACGAAC

[1137]

SEQ ID NO	说明	序列
		UGACUAAAGUGAAAUACGUUACUGAAGGA
		AUGAGGAAGCCGGCCUUUCUGUCCGGAGAA
		CAGAAGAAAGCAAUUGUCGAUCUGCUGUUC
		AAGACCAACCGCAAGGUGACCGUCAAGCAG
		CUUAAAGAGGACUACUUCAAGAAGAUCGA
		GUGUUUCGACUCAGUGGAAAUCAGCGGGG
		UGGAGGACAGAUUCAACGCUUCGCUGGGAA
		CCUAUCAUGAUCUCCUGAAGAUCAUCAAGG
		ACAAGGACUUCCUUGACAACGAGGAGAACG
		AGGACAUCCUGGAAGAUAUCGUCCUGACCU
		UGACCCUUUUCGAGGAUCGCGAGAUGAUCG
		AGGAGAGGCUUAAGACCUACGCUCAUCUCU
		UCGACGAUAAGGUCAUGAAACAACUCAAGC
		GCCGCCGGUACACUGGUUGGGGCCGCCUCU
		CCCGCAAGCUGAUCAACGGUAUUCGCGAUA
		AACAGAGCGGUAAAACUAUCCUGGAUUUCC
		UCAAAUCGGAUGGCUUCGCUAAUCGUAACU
		UCAUGCAAUUGAUCCACGACGACAGCCUGA
		CCUUUAAGGAGGACAUCCAAAAAGCACAAG
		UGUCCGGACAGGGAGACUCACUCCAUGAAC
		ACAUCGCGAAUCUGGCCGGUUCGCCGGCGA
		UUAAGAAGGGAAUUCUGCAAACUGUGAAG
		GUGGUCGACGAGCUGGUGAAGGUCAUGGG
		ACGGCACAAACCGGAGAAUAUCGUGAUUGA
		AAUGGCCCGAGAAAACCAGACUACCCAGAA
		GGGCCAGAAAAACUCCCGCGAAAGGAUGAA
		GCGGAUCGAAGAAGGAAUCAAGGAGCUGG
		GCAGCCAGAUCCUGAAAGAGCACCCGGUGG
		AAAACACGCAGCUGCAGAACGAGAAGCUCU
		ACCUGUACUAUUUGCAAAAUGGACGGGACA
		UGUACGUGGACCAAGAGCUGGACAUCAAUC
		GGUUGUCUGAUUACGACGUGGACCACAUCG
		UUCCACAGUCCUUUCUGAAGGAUGACUCGA
		UCGAUAACAAGGUGUUGACUCGCAGCGACA
		AGAACAGAGGGAAGUCAGAUAAUGUGCCA
		UCGGAGGAGGUCGUGAAGAAGAUGAAGAA
		UUACUGGCGGCAGCUCCUGAAUGCGAAGCU
		GAUUACCCAGAGAAAGUUUGACAAUCUCAC
		UAAAGCCGAGCGCGGCGGACUCUCAGAGCU
		GGAUAAGGCUGGAUUCAUCAAACGGCAGCU
		GGUCGAGACUCGGCAGAUUACCAAGCACGU
		GGCGCAGAUCUUGGACUCCCGCAUGAACAC
		UAAAUACGACGAGAACGAUAAGCUCAUCCG
		GGAAGUGAAGGUGAUUACCCUGAAAAGCA
		AACUUGUGUCGGACUUUCGGAAGGACUUUC
		AGUUUUACAAAGUGAGAGAAAUCAACAAC
		UACCAUCACGCGCAUGACGCAUACCUCAAC
		GCUGUGGUCGGUACCGCCCUGAUCAAAAAG

[1138]

SEQ ID NO	说明	序列
		UACCCUAAACUUGAAUCGGAGUUUGUGUAC GGAGACUACAAGGUCUACGACGUGAGGAA GAUGAUAGCCAAGUCCGAACAGGAAAUCGG GAAAGCAACUGCGAAAUACUUCUUUUACUC AAACAUCAUGAACUUUUUCAAGACUGAAA UUACGCUGGCCAAUGGAGAAAUCAGGAAG AGGCCACUGAUCGAAACUAACGGAGAAACG GGCGAAAUCGUGUGGGACAAGGGCAGGGA CUUCGCAACUGUUCGCAAAGUGCUCUCUAU GCCGCAAGUCAAUAUUGUGAAGAAAACCGA AGUGCAAACCGGCGGAUUUUCAAAGGAAUC GAUCCUCCCAAAGAGAAAUAGCGACAAGCU CAUUGCACGCAAGAAAGACUGGGACCCGAA GAAGUACGGAGGAUUCGAUUCGCCGACUGU CGCAUACUCCGUCCUCGUGGUGGCCAAGGU GGAGAAGGGAAAGAGCAAAAAGCUCAAAU CCGUCAAAGAGCUGCUGGGGAUUACCAUCA UGGAACGAUCCUCGUUCGAGAAGAACCCGA UUGAUUUCCUCGAGGCGAAGGGUUACAAG GAGGUGAAGAAGGAUCUGAUCAUCAAACU CCCCAAGUACUCACUGUUCGAACUGGAAAA UGGUCGGAAGCGCAUGCUGGCUUCGGCCGG AGAACUCCAAAAAGGAAAUGAGCUGGCCUU GCCUAGCAAGUACGUCAACUUCCUCUAUCU UGCUUCGCACUACGAAAAACUCAAAGGGUC ACCGGAAGAUAACGAACAGAAGCAGCUUUU CGUGGAGCAGCACAAGCAUUAUCUGGAUGA AAUCAUCGAACAAAUCUCCGAGUUUUCAAA GCGCGUGAUCCUCGCCGACGCCAACCUCGA CAAAGUCCUGUCGGCCUACAAUAAGCAUAG AGAUAAGCCGAUCAGAGAACAGGCCGAGAA CAUUAUCCACUUGUUCACCCUGACUAACCU GGGAGCCCCAGCCGCCUUCAAGUACUUCGA UACUACUAUCGAUCGCAAAAGAUACACGUC CACCAAGGAAGUUCUGGACGCGACCCUGAU CCACCAAAGCAUCACUGGACUCUACGAAAC UAGGAUCGAUCUGUCGCAGCUGGGUGGCGA UUCUGGUGGUUCUACUAAUCUGUCAGAUA UUAUUGAAAAGGAGACCGGUAAGCAACUG GUUAUCCAGGAAUCCAUCCUCAUGCUCCCA GAGGAGGUGGAAGAAGUCAUUGGGAACAA GCCGGAAAGCGAUAUACUCGUGCACACCGC CUACGACGAGAGCACCGACGAGAAUGUCAU GCUUCUGACUAGCGACGCCCCUGAAUACAA GCCUUGGGCUCUGGUCAUACAGGAUAGCAA CGGUGAGAACAAGAUUAAGAUGCUCUCUG GUGGUUCUCCCAAGAAGAAGAGGAAAGUC UAA

[1139]

SEQ ID NO	说明	序列
12	BE3 的氨基酸序列	MSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRK ETCLLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNF IEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGECSRAI TEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRD LISSGVTIQIMTEQESGYCWRNFVNYSPSNEAH WPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRK QPQLTFFTIALQSCHYQRLPPHILWATGLKSGSE TPGTSESATPESDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITD EYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSG ETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNE MAKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNI VDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLI YLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQ LVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSR RLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFK SNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQ YADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSA SMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFF DQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMD GTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLG ELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYY VGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVD KGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLY EYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKA IVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEI SGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENE DILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTI LDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQ VSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVD ELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNS RERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIV PQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEV VKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERG GLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRM NTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQF YKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKL ESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKY FFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETG EIVWDKGRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQT GGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGF DSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGIT IMERSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKY SLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYV NFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHY LDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRD KPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDR

[1140]

SEQ ID NO	说明	序列
		KRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGG DSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVE EVIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAP EYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSPKKKRKV
13	编码 UGI 的 mRNA	GGGAGACCCAAGCUGGCUAGCUCCCGCAGU CGGCGUCCAGCGGCUCUGCUUGUUCGUGUG UGUGUCGUUGCAGGCCUUAUUCGGAUCCGC CACCAUGGGACCGAAGAAGAAGAGAAAGG UCGGAGGAGGAAGCACAAACCUGUCGGACA UCAUCGAAAAGGAAACAGGAAAGCAGCUG GUCAUCCAGGAAUCGAUCCUGAUGCUGCCG GAAGAAGUCGAAGAAGUCAUCGGAAACAA GCCGGAAUCGGACAUCCUGGUCCACACAGC AUACGACGAAUCGACAGACGAAAACGUCAU GCUGCUGACAUCGGACGCACCGGAAUACAA GCCGUGGGCACUGGUCAUCCAGGACUCGAA CGGAGAAAACAAGAUCAAGAUGCUGUGAU AGUCUAGACAUCACAUUUAAAAGCAUCUCA GCCUACCAUGAGAAUAAGAGAAAGAAAAU GAAGAUCAAUAGCUUAUUCAUCUCUUUUUC UUUUUCGUUGGUGUAAAGCCAACACCCUGU CUAAAAAACAUAAAUUUCUUUAAUCAUUU UGCCUCUUUUCUCUGUGCUUCAAUUAAUAA AAAAUGGAAAGAACCUCGAGUCUAG
14	UGI 的开放阅读框	AUGGGACCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGG AGGAGGAAGCACAAACCUGUCGGACAUCAU CGAAAAGGAAACAGGAAAGCAGCUGGUCA UCCAGGAAUCGAUCCUGAUGCUGCCGGAAG AAGUCGAAGAAGUCAUCGGAAACAAGCCGG AAUCGGACAUCCUGGUCCACACAGCAUACG ACGAAUCGACAGACGAAAACGUCAUGCUGC UGACAUCGGACGCACCGGAAUACAAGCCGU GGGCACUGGUCAUCCAGGACUCGAACGGAG AAAACAAGAUCAAGAUGCUGUGA
15	UGI 的氨基酸序列	MTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIG NKPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKP WALVIQDSNGENKIKMLSGGSKRTADGSEFESP KKKRKVE
16	编码具有 2x UGI 的 BC22 的 mRNA	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGAGGCCUCCCCCG CCUCCGGCCCCCGGCACCUGAUGGACCCCC ACAUCUUCACCUCCAACUUCAACAACGGCA UCGGCCGGCACAAGACCUACCUGUGCUACG AGGUGGAGCGGCUGGACAACGGCACCUCCG UGAAGAUGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGC ACAACCAGGCCAAGAACCUGCUGUGCGGCU UCUACGGCCGGCACGCCGAGCUGCGGUUCC UGGACCUGGUGCCCUCCCUGCAGCUGGACC

[1141]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCGCCCAGAUCUACCGGGUGACCUGGUUCA
		UCUCCUGGUCCCCCUGCUUCUCCUGGGGCU
		GCGCCGGCGAGGUGCGGGCCUUCCUGCAGG
		AGAACACCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCG
		CCGCCCGGAUCUACGACUACGACCCCCUGU
		ACAAGGAGGCCCUGCAGAUGCUGCGGGACG
		CCGGCGCCCAGGUGUCCAUCAUGACCUACG
		ACGAGUUCAAGCACUGCUGGGACACCUUCG
		UGGACCACCAGGGCUGCCCCUUCCAGCCCU
		GGGACGGCCUGGACGAGCACUCCCAGGCCC
		UGUCCGGCCGGCUGCGGGCCAUCCUGCAGA
		ACCAGGGCAACUCCGGCUCCGAGACCCCCG
		GCACCUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCG
		ACAAGAAGUACUCCAUCGGCCUGGCCAUCG
		GCACCAACUCCGUGGGCUGGGCCGUGAUCA
		CCGACGAGUACAAGGUGCCCUCCAAGAAGU
		UCAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGCACU
		CCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCCCUGC
		UGUUCGACUCCGGCGAGACCGCCGAGGCCA
		CCCGGCUGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGU
		ACACCCGGCGGAAGAACCGGAUCUGCUACC
		UGCAGGAGAUCUUCUCCAACGAGAUGGCCA
		AGGUGGACGACUCCUUCUUCCACCGGCUGG
		AGGAGUCCUUCCUGGUGGAGGAGGACAAG
		AAGCACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGCAAC
		AUCGUGGACGAGGUGGCCUACCACGAGAAG
		UACCCCACCAUCUACCACCUGCGGAAGAAG
		CUGGUGGACUCCACCGACAAGGCCGACCUG
		CGGCUGAUCUACCUGGCCCUGGCCCACAUG
		AUCAAGUUCCGGGGCCACUUCCUGAUCGAG
		GGCGACCUGAACCCCGACAACUCCGACGUG
		GACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACC
		UACAACCAGCUGUUCGAGGAGAACCCCAUC
		AACGCCUCCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUC
		CUGUCCGCCCGGCUGUCCAAGUCCCGGCGG
		CUGGAGAACCUGAUCGCCCAGCUGCCCGGC
		GAGAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAACCUG
		AUCGCCCUGUCCCUGGGCCUGACCCCCAAC
		UUCAAGUCCAACUUCGACCUGGCCGAGGAC
		GCCAAGCUGCAGCUGUCCAAGGACACCUAC
		GACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCCAG
		AUCGGCGACCAGUACGCCGACCUGUUCCUG
		GCCGCCAAGAACCUGUCCGACGCCAUCCUG
		CUGUCCGACAUCCUGCGGGUGAACACCGAG
		AUCACCAAGGCCCCCCUGUCCGCCUCCAUG
		AUCAAGCGGUACGACGAGCACCACCAGGAC
		CUGACCCUGCUGAAGGCCCUGGUGCGGCAG
		CAGCUGCCCGAGAAGUACAAGGAGAUCUUC

[1142]

SEQ ID NO	说明	序列
		UUCGACCAGUCCAAGAACGGCUACGCCGGC
		UACAUCGACGGCGGCGCCUCCCAGGAGGAG
		UUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUGGAG
		AAGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUG
		AAGCUGAACCGGGAGGACCUGCUGCGGAAG
		CAGCGGACCUUCGACAACGGCUCCAUCCCC
		CACCAGAUCCACCUGGGCGAGCUGCACGCC
		AUCCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCC
		UUCCUGAAGGACAACCGGGAGAAGAUCGAG
		AAGAUCCUGACCUUCCGGAUCCCCUACUAC
		GUGGGCCCCCUGGCCCGGGGCAACUCCCGG
		UUCGCCUGGAUGACCCGGAAGUCCGAGGAG
		ACCAUCACCCCCUGGAACUUCGAGGAGGUG
		GUGGACAAGGGCGCCUCCGCCCAGUCCUUC
		AUCGAGCGGAUGACCAACUUCGACAAGAAC
		CUGCCCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAGCAC
		UCCCUGCUGUACGAGUACUUCACCGUGUAC
		AACGAGCUGACCAAGGUGAAGUACGUGACC
		GAGGGCAUGCGGAAGCCCGCCUUCCUGUCC
		GGCGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUG
		CUGUUCAAGACCAACCGGAAGGUGACCGUG
		AAGCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAAGAA
		GAUCGAGUGCUUCGACUCCGUGGAGAUCUC
		CGGCGUGGAGGACCGGUUCAACGCCUCCCU
		GGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAU
		CAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGA
		GAACGAGGACAUCCUGGAGGACAUCGUGCU
		GACCCUGACCCUGUUCGAGGACCGGGAGAU
		GAUCGAGGAGCGGCUGAAGACCUACGCCCA
		CCUGUUCGACGACAAGGUGAUGAAGCAGCU
		GAAGCGGCGGCGGUACACCGGCUGGGGCCG
		GCUGUCCCGGAAGCUGAUCAACGGCAUCCG
		GGACAAGCAGUCCGGCAAGACCAUCCUGGA
		CUUCCUGAAGUCCGACGGCUUCGCCAACCG
		GAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACUC
		CCUGACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAAGGC
		CCAGGUGUCCGGCCAGGGCGACUCCCUGCA
		CGAGCACAUCGCCAACCUGGCCGGCUCCCC
		CGCCAUCAAGAAGGGCAUCCUGCAGACCGU
		GAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGA
		UGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACAUCGUGA
		UCGAGAUGGCCCGGGAGAACCAGACCACCC
		AGAAGGGCCAGAAGAACUCCCGGGAGCGGA
		UGAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUCAAGGAG
		CUGGGCUCCCAGAUCCUGAAGGAGCACCCC
		GUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAGAAG
		CUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCCGG
		GACAUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUC

[1143]

SEQ ID NO	说明	序列
		AACCGGCUGUCCGACUACGACGUGGACCAC
		AUCGUGCCCCAGUCCUUCCUGAAGGACGAC
		UCCAUCGACAACAAGGUGCUGACCCGGUCC
		GACAAGAACCGGGGCAAGUCCGACAACGUG
		CCCUCCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAUGAA
		GAACUACUGGCGGCAGCUGCUGAACGCCAA
		GCUGAUCACCCAGCGGAAGUUCGACAACCU
		GACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGUCCGA
		GCUGGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGCGGCA
		GCUGGUGGAGACCCGGCAGAUCACCAAGCA
		CGUGGCCCAGAUCCUGGACUCCCGGAUGAA
		CACCAAGUACGACGAGAACGACAAGCUGAU
		CCGGGAGGUGAAGGUGAUCACCCUGAAGUC
		CAAGCUGGUGUCCGACUUCCGGAAGGACUU
		CCAGUUCUACAAGGUGCGGGAGAUCAACAA
		CUACCACCACGCCCACGACGCCUACCUGAA
		CGCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUCAAGAA
		GUACCCCAAGCUGGAGUCCGAGUUCGUGUA
		CGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGGAA
		GAUGAUCGCCAAGUCCGAGCAGGAGAUCGG
		CAAGGCCACCGCCAAGUACUUCUUCUACUC
		CAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAU
		CACCCUGGCCAACGGCGAGAUCCGGAAGCG
		GCCCCUGAUCGAGACCAACGGCGAGACCGG
		CGAGAUCGUGUGGGACAAGGGCCGGGACUU
		CGCCACCGUGCGGAAGGUGCUGUCCAUGCC
		CCAGGUGAACAUCGUGAAGAAGACCGAGGU
		GCAGACCGGCGGCUUCUCCAAGGAGUCCAU
		CCUGCCCAAGCGGAACUCCGACAAGCUGAU
		CGCCCGGAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAA
		GUACGGCGGCUUCGACUCCCCCACCGUGGC
		CUACUCCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGA
		GAAGGGCAAGUCCAAGAAGCUGAAGUCCGU
		GAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGA
		GCGGUCCUCCUUCGAGAAGAACCCCAUCGA
		CUUCCUGGAGGCCAAGGGCUACAAGGAGGU
		GAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCAA
		GUACUCCCUGUUCGAGCUGGAGAACGGCCG
		GAAGCGGAUGCUGGCCUCCGCCGGCGAGCU
		GCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCUGCCCUC
		CAAGUACGUGAACUUCCUGUACCUGGCCUC
		CCACUACGAGAAGCUGAAGGGCUCCCCCGA
		GGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGA
		GCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAU
		CGAGCAGAUCUCCGAGUUCUCCAAGCGGGU
		GAUCCUGGCCGACGCCAACCUGGACAAGGU
		GCUGUCCGCCUACAACAAGCACCGGGACAA
		GCCCAUCCGGGAGCAGGCCGAGAACAUCAU

[1144]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCACCUGUUCACCCUGACCAACCUGGGCGC CCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACACCAC CAUCGACCGGAAGCGGUACACCUCCACCAA GGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCCACCA GUCCAUCACCGGCCUGUACGAGACCCGGAU CGACCUGUCCCAGCUGGGCGGCGACUCCGG CGGCUCCGGCGGCUCCGGCGGCUCCACCAA CCUGUCCGACAUCAUCGAGAAGGAGACCGG CAAGCAGCUGGUGAUCCAGGAGUCCAUCCU GAUGCUGCCCGAGGAGGUGGAGGAGGUGA UCGGCAACAAGCCCGAGUCCGACAUCCUGG UGCACACCGCCUACGACGAGUCCACCGACG AGAACGUGAUGCUGCUGACCUCCGACGCCC CCGAGUACAAGCCCUGGGCCCUGGUGAUCC AGGACUCCAACGGCGAGAACAAGAUCAAGA UGCUGUCCGGCGGCUCCGGCGGCUCCGGCG GCUCCACCAACCUGUCCGACAUCAUCGAGA AGGAGACCGGCAAGCAGCUGGUGAUCCAGG AGUCCAUCCUGAUGCUGCCCGAGGAGGUGG AGGAGGUGAUCGGCAACAAGCCCGAGUCCG ACAUCCUGGUGCACACCGCCUACGACGAGU CCACCGACGAGAACGUGAUGCUGCUGACCU CCGACGCCCCCGAGUACAAGCCCUGGGCCC UGGUGAUCCAGGACUCCAACGGCGAGAACA AGAUCAAGAUGCUGUCCGGCGGCUCCAAGC GGACCGCCGACGGCUCCGAGUUCGAGCCCA AGAAGAAGCGGAAGGUGUGAUAGCUAGCA CCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUC UAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUUAC AAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUC GUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUC UUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAU GGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAA GGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAA ACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAA ACGUAAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAA AAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAA AAAUGUAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAA AAAACGCAAAAAAAAAAAAACACAAAAAAA AAAAAUGCAAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAA AAAAAAUCUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAA AAAAAACCCAAAAAAAAAAAAGACAAAAA AAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAAGUUAAAA AAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAUUUAAA AAAAAAAAAUCUAG
17	具有 2x UGI 的 BC22 的开放阅读	AUGGAGGCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGG CACCUGAUGGACCCCCACAUCUUCACCUCC AACUUCAACAACGGCAUCGGCCGGCACAAG

[1145]

SEQ ID NO	说明	序列
	框	ACCUACCUGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUG GACAACGGCACCUCCGUGAAGAUGGACCAG CACCGGGGCUUCCUGCACAACCAGGCCAAG AACCUGCUGUGCGGCUUCUACGGCCGGCAC GCCGAGCUGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCC UCCCUGCAGCUGGACCCCGCCCAGAUCUAC CGGGUGACCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCC UGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUG CGGGCCUUCCUGCAGGAGAACACCCACGUG CGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUAC GACUACGACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUG CAGAUGCUGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUG UCCAUCAUGACCUACGACGAGUUCAAGCAC UGCUGGGACACCUUCGUGGACCACCAGGGC UGCCCCUUCCAGCCCUGGGACGGCCUGGAC GAGCACUCCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUG CGGGCCAUCCUGCAGAACCAGGGCAACUCC GGCUCCGAGACCCCCGGCACCUCCGAGUCC GCCACCCCCGAGUCCGACAAGAAGUACUCC AUCGGCCUGGCCAUCGGCACCAACUCCGUG GGCUGGGCCGUGAUCACCGACGAGUACAAG GUGCCCUCCAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGC AACACCGACCGGCACUCCAUCAAGAAGAAC CUGAUCGGCGCCCUGCUGUUCGACUCCGGC GAGACCGCCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGG ACCGCCCGGCGGCGGUACACCCGGCGGAAG AACCGGAUCUGCUACCUGCAGGAGAUCUUC UCCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACUCC UUCUUCCACCGGCUGGAGGAGUCCUUCCUG GUGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCAC CCCAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUG GCCUACCACGAGAAGUACCCCACCAUCUAC CACCUGCGGAAGAAGCUGGUGGACUCCACC GACAAGGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUG GCCCUGGCCCACAUGAUCAAGUUCCGGGGC CACUUCCUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCC GACAACUCCGACGUGGACAAGCUGUUCAUC CAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGCUGUUC GAGGAGAACCCCAUCAACGCCUCCGGCGUG GACGCCAAGGCCAUCCUGUCCGCCCGGCUG UCCAAGUCCCGGCGGCUGGAGAACCUGAUC GCCCAGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGC CUGUUCGGCAACCUGAUCGCCCUGUCCCUG GGCCUGACCCCCAACUUCAAGUCCAACUUC GACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUG UCCAAGGACACCUACGACGACGACCUGGAC AACCUGCUGGCCCAGAUCGGCGACCAGUAC GCCGACCUGUUCCUGGCCGCCAAGAACCUG

[1146]

SEQ ID NO	说明	序列
		UCCGACGCCAUCCUGCUGUCCGACAUCCUG
		CGGGUGAACACCGAGAUCACCAAGGCCCCC
		CUGUCCGCCUCCAUGAUCAAGCGGUACGAC
		GAGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAG
		GCCCUGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGAGAAG
		UACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGUCCAAG
		AACGGCUACGCCGGCUACAUCGACGGCGGC
		GCCUCCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCAUC
		AAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACC
		GAGGAGCUGCUGGUGAAGCUGAACCGGGA
		GGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACCUUCGA
		CAACGGCUCCAUCCCCCACCAGAUCCACCU
		GGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGCGGCGGCA
		GGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAA
		CCGGGAGAAGAUCGAGAAGAUCCUGACCUU
		CCGGAUCCCCUACUACGUGGGCCCCCUGGC
		CCGGGGCAACUCCCGGUUCGCCUGGAUGAC
		CCGGAAGUCCGAGGAGACCAUCACCCCCUG
		GAACUUCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCG
		CCUCCGCCCAGUCCUUCAUCGAGCGGAUGA
		CCAACUUCGACAAGAACCUGCCCAACGAGA
		AGGUGCUGCCCAAGCACUCCCUGCUGUACG
		AGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGACCA
		AGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGCGG
		AAGCCCGCCUUCCUGUCCGGCGAGCAGAAG
		AAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACC
		AACCGGAAGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAG
		GAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUC
		GACUCCGUGGAGAUCUCCGGCGUGGAGGAC
		CGGUUCAACGCCUCCCCUGGGCACCUACCAC
		GACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGAC
		UUCCUGGACAACGAGGAGAACGAGGACAUC
		CUGGAGGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUG
		UUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGCG
		GCUGAAGACCUACGCCCACCUGUUCGACGA
		CAAGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCG
		GUACACCGGCUGGGGCCGGCUGUCCCGGAA
		GCUGAUCAACGGCAUCCGGGACAAGCAGUC
		CGGCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGAAGUC
		CGACGGCUUCGCCAACCGGAACUUCAUGCA
		GCUGAUCCACGACGACUCCCUGACCUUCAA
		GGAGGACAUCCAGAAGGCCCAGGUGUCCGG
		CCAGGGCGACUCCCUGCACGAGCACAUCGC
		CAACCUGGCCGGCUCCCCCGCCAUCAAGAA
		GGGCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGGA
		CGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAA
		GCCCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCCG
		GGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAA

[1147]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAACUCCCGGGAGCGGAUGAAGCGGAUCGA
		GGAGGGCAUCAAGGAGCUGGGCUCCCAGAU
		CCUGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCA
		GCUGCAGAACGAGAAGCUGUACCUGUACUA
		CCUGCAGAACGGCCGGGACAUGUACGUGGA
		CCAGGAGCUGGACAUCAACCGGCUGUCCGA
		CUACGACGUGGACCACAUCGUGCCCCAGUC
		CUUCCUGAAGGACGACUCCAUCGACAACAA
		GGUGCUGACCCGGUCCGACAAGAACCGGGG
		CAAGUCCGACAACGUGCCCUCCGAGGAGGU
		GGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGC
		AGCUGCUGAACGCCAAGCUGAUCACCCAGC
		GGAAGUUCGACAACCUGACCAAGGCCGAGC
		GGGGCGGCCUGUCCGAGCUGGACAAGGCCG
		GCUUCAUCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACCC
		GGCAGAUCACCAAGCACGUGGCCCAGAUCC
		UGGACUCCCGGAUGAACACCAAGUACGACG
		AGAACGACAAGCUGAUCCGGGAGGUGAAG
		GUGAUCACCCUGAAGUCCAAGCUGGUGUCC
		GACUUCCGGAAGGACUUCCAGUUCUACAAG
		GUGCGGGAGAUCAACAACUACCACCACGCC
		CACGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGC
		ACCGCCCUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUG
		GAGUCCGAGUUCGUGUACGGCGACUACAAG
		GUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUCGCCAAG
		UCCGAGCAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCC
		AAGUACUUCUUCUACUCCAACAUCAUGAAC
		UUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUGGCCAAC
		GGCGAGAUCCGGAAGCGGCCCCUGAUCGAG
		ACCAACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGG
		GACAAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGG
		AAGGUGCUGUCCAUGCCCCAGGUGAACAUC
		GUGAAGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGC
		UUCUCCAAGGAGUCCAUCCUGCCCAAGCGG
		AACUCCGACAAGCUGAUCGCCCGGAAGAAG
		GACUGGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUC
		GACUCCCCCACCGUGGCCUACUCCGUGCUG
		GUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGCAAGUC
		CAAGAAGCUGAAGUCCGUGAAGGAGCUGCU
		GGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGUCCUCCUU
		CGAGAAGAACCCCAUCGACUUCCUGGAGGC
		CAAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACC
		UGAUCAUCAAGCUGCCCAAGUACUCCCUGU
		UCGAGCUGGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGC
		UGGCCUCCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCA
		ACGAGCUGGCCCUGCCCUCCAAGUACGUGA
		ACUUCCUGUACCUGGCCUCCCACUACGAGA
		AGCUGAAGGGCUCCCCCGAGGACAACGAGC

[1148]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGAAGCAGCUGUUCGUGGAGCAGCACAAGC ACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCU CCGAGUUCUCCAAGCGGGUGAUCCUGGCCG ACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGUCCGCCU ACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAUCCGGG AGCAGGCCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCA CCCUGACCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCU UCAAGUACUUCGACACCACCAUCGACCGGA AGCGGUACACCUCCACCAAGGAGGUGCUGG ACGCCACCCUGAUCCACCAGUCCAUCACCG GCCUGUACGAGACCCGGAUCGACCUGUCCC AGCUGGGCGGCGACUCCGGCGGCUCCGGCG GCUCCGGCGGCUCCACCAACCUGUCCGACA UCAUCGAGAAGGAGACCGGCAAGCAGCUGG UGAUCCAGGAGUCCAUCCUGAUGCUGCCCG AGGAGGUGGAGGAGGUGAUCGGCAACAAG CCCGAGUCCGACAUCCUGGUGCACACCGCC UACGACGAGUCCACCGACGAGAACGUGAUG CUGCUGACCUCCGACGCCCCCGAGUACAAG CCCUGGGCCCUGGUGAUCCAGGACUCCAAC GGCGAGAACAAGAUCAAGAUGCUGUCCGGC GGCUCCGGCGGCUCCGGCGGCUCCACCAAC CUGUCCGACAUCAUCGAGAAGGAGACCGGC AAGCAGCUGGUGAUCCAGGAGUCCAUCCUG AUGCUGCCCGAGGAGGUGGAGGAGGUGAU CGGCAACAAGCCCGAGUCCGACAUCCUGGU GCACACCGCCUACGACGAGUCCACCGACGA GAACGUGAUGCUGCUGACCUCCGACGCCCC CGAGUACAAGCCCUGGGCCCUGGUGAUCCA GGACUCCAACGGCGAGAACAAGAUCAAGAU GCUGUCCGGCGGCUCCAAGCGGACCGCCGA CGGCUCCGAGUUCGAGCCCAAGAAGAAGCG GAAGGUGUGAUAG
18	具有 2x UGI 的 BC22 的氨基酸序列	MEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYL CYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLC GFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTWFIS WSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARI YDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKH CWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLR AILQNQGNSGSETPGTSESATPESDKKYSIGLAI GTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSI KKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRK NRICYLQEIFSNEMAKVDDSFFHRLEESFLVEE DKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKL VDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLN PDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDA KAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNL IALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDD

[1149]

SEQ ID NO	说明	序列
		LDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILR VNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVR QQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEF YKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTF DNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNRE KIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEE TITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLP NEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMR KPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKED YFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKII KDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEER LKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKL INGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHD DSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPA IKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMA RENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILK EHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQEL DINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSD KNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLI TQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVET RQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVIT LKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYL NAVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRK MIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLAN GEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVL SMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLI ARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEK GKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLEAK GYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASA GELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILA DANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLT NLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIH QSITGLYETRIDLSQLGGDSGGSGGSGGSTNLS DIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKPES DILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVI QDSNGENKIKMLSGGSGGSGGSTNLSDIIEKET GKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKPESDILVHTA YDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGE NKIKMLSGGSKRTADGSEFEPKKKRKV
19	编码 BE4MAX 蛋白的 mRNA	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGAAGCGGACCGCCG ACGGCUCCGAGUUCGAGUCCCCCAAGAAGA AGCGGAAGGUGUCCUCCGAGACCGGCCCCG UGGCCGUGGACCCCACCCUGCGGCGGCGGA UCGAGCCCCACGAGUUCGAGGUGUUCUUCG ACCCCCGGGAGCUGCGGAAGGAGACCUGCC UGCUGUACGAGAUCAACUGGGGCGGCCGGC

[1150]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACUCCAUCUGGCGGCACACCUCCCAGAACA
		CCAACAAGCACGUGGAGGUGAACUUCAUCG
		AGAAGUUCACCACCGAGCGGUACUUCUGCC
		CCAACACCCGGUGCUCCAUCACCUGGUUCC
		UGUCCUGGUCCCCCUGCGGCGAGUGCUCCC
		GGGCCAUCACCGAGUUCCUGUCCCGGUACC
		CCCACGUGACCCUGUUCAUCUACAUCGCCC
		GGCUGUACCACCACGCCGACCCCCGGAACC
		GGCAGGGCCUGCGGGACCUGAUCUCCUCCG
		GCGUGACCAUCCAGAUCAUGACCGAGCAGG
		AGUCCGGCUACUGCUGGCGGAACUUCGUGA
		ACUACUCCCCCUCCAACGAGGCCCACUGGC
		CCCGGUACCCCCACCUGUGGGUGCGGCUGU
		ACGUGCUGGAGCUGUACUGCAUCAUCCUGG
		GCCUGCCCCCCUGCCUGAACAUCCUGCGGC
		GGAAGCAGCCCCAGCUGACCUUCUUCACCA
		UCGCCCUGCAGUCCUGCCACUACCAGCGGC
		UGCCCCCCCACAUCCUGUGGGCCACCGGCC
		UGAAGUCCGGCGGCUCCUCCGGCGGCUCCU
		CCGGCUCCGAGACCCCCGGCACCUCCGAGU
		CCGCCACCCCCGAGUCCUCCGGCGGCUCCU
		CCGGCGGCUCCGACAAGAAGUACUCCAUCG
		GCCUGGCCAUCGGCACCAACUCCGUGGGCU
		GGGCCGUGAUCACCGACGAGUACAAGGUGC
		CCUCCAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGCAACA
		CCGACCGGCACUCCAUCAAGAAGAACCUGA
		UCGGCGCCCUGCUGUUCGACUCCGGCGAGA
		CCGCCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGGACCG
		CCCGGCGGCGGUACACCCGGCGGAAGAACC
		GGAUCUGCUACCUGCAGGAGAUCUUCUCCA
		ACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACUCCUUCU
		UCCACCGGCUGGAGGAGUCCUUCCUGGUGG
		AGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCA
		UCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUGGCCU
		ACCACGAGAAGUACCCCACCAUCUACCACC
		UGCGGAAGAAGCUGGUGGACUCCACCGACA
		AGGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUGGCCC
		UGGCCCACAUGAUCAAGUUCCGGGGCCACU
		UCCUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCCGACA
		ACUCCGACGUGGACAAGCUGUUCAUCCAGC
		UGGUGCAGACCUACAACCAGCUGUUCGAGG
		AGAACCCCAUCAACGCCUCCGGCGUGGACG
		CCAAGGCCAUCCUGUCCGCCCGGCUGUCCA
		AGUCCCGGCGGCUGGAGAACCUGAUCGCCC
		AGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUGU
		UCGGCAACCUGAUCGCCCUGUCCCUGGGCC
		UGACCCCCAACUUCAAGUCCAACUUCGACC
		UGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUGUCCA

[1151]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGGACACCUACGACGACGACCUGGACAACC
		UGCUGGCCCAGAUCGGCGACCAGUACGCCG
		ACCUGUUCCUGGCCGCCAAGAACCUGUCCG
		ACGCCAUCCUGCUGUCCGACAUCCUGCGGG
		UGAACACCGAGAUCACCAAGGCCCCCCUGU
		CCGCCUCCAUGAUCAAGCGGUACGACGAGC
		ACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAGGCCC
		UGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGAGAAGUACA
		AGGAGAUCUUCUUCGACCAGUCCAAGAACG
		GCUACGCCGGCUACAUCGACGGCGGCGCCU
		CCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCAUCAAGC
		CCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACCGAGG
		AGCUGCUGGUGAAGCUGAACCGGGAGGACC
		UGCUGCGGAAGCAGCGGACCUUCGACAACG
		GCUCCAUCCCCCACCAGAUCCACCUGGGCG
		AGCUGCACGCCAUCCUGCGGCGGCAGGAGG
		ACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAACCGGG
		AGAAGAUCGAGAAGAUCCUGACCUUCCGGA
		UCCCCUACUACGUGGGCCCCCUGGCCCGGG
		GCAACUCCCGGUUCGCCUGGAUGACCCGGA
		AGUCCGAGGAGACCAUCACCCCCUGGAACU
		UCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCGCCUCCG
		CCCAGUCCUUCAUCGAGCGGAUGACCAACU
		UCGACAAGAACCUGCCCAACGAGAAGGUGC
		UGCCCAAGCACUCCCUGCUGUACGAGUACU
		UCACCGUGUACAACGAGCUGACCAAGGUGA
		AGUACGUGACCGAGGGCAUGCGGAAGCCCG
		CCUUCCUGUCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCA
		UCGUGGACCUGCUGUUCAAGACCAACCGGA
		AGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAGGAGGAC
		UACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACUCC
		GUGGAGAUCUCCGGCGUGGAGGACCGGUUC
		AACGCCUCCCUGGGCACCUACCACGACCUG
		CUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUG
		GACAACGAGGAGAACGAGGACAUCCUGGAG
		GACAUCGUGCUGACCCUGACCCUGUUCGAG
		GACCGGGAGAUGAUCGAGGAGCGGCUGAA
		GACCUACGCCCACCUGUUCGACGACAAGGU
		GAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCGGUACAC
		CGGCUGGGGCCGGCUGUCCCGGAAGCUGAU
		CAACGGCAUCCGGGACAAGCAGUCCGGCAA
		GACCAUCCUGGACUUCCUGAAGUCCGACGG
		CUUCGCCAACCGGAACUUCAUGCAGCUGAU
		CCACGACGACUCCCUGACCUUCAAGGAGGA
		CAUCCAGAAGGCCCAGGUGUCCGGCCAGGG
		CGACUCCCUGCACGAGCACAUCGCCAACCU
		GGCCGGCUCCCCCGCCAUCAAGAAGGGCAU
		CCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGGACGAGCU

[1152]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAAGCCCGA
		GAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCCGGGAGAA
		CCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACUC
		CCGGGAGCGGAUGAAGCGGAUCGAGGAGG
		GCAUCAAGGAGCUGGGCUCCCAGAUCCUGA
		AGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCAGCUGC
		AGAACGAGAAGCUGUACCUGUACUACCUGC
		AGAACGGCCGGGACAUGUACGUGGACCAGG
		AGCUGGACAUCAACCGGCUGUCCGACUACG
		ACGUGGACCACAUCGUGCCCCAGUCCUUCC
		UGAAGGACGACUCCAUCGACAACAAGGUGC
		UGACCCGGUCCGACAAGAACCGGGGCAAGU
		CCGACAACGUGCCCUCCGAGGAGGUGGUGA
		AGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGCAGCUGC
		UGAACGCCAAGCUGAUCACCCAGCGGAAGU
		UCGACAACCUGACCAAGGCCGAGCGGGGCG
		GCCUGUCCGAGCUGGACAAGGCCGGCUUCA
		UCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACCCGGCAGA
		UCACCAAGCACGUGGCCCAGAUCCUGGACU
		CCCGGAUGAACACCAAGUACGACGAGAACG
		ACAAGCUGAUCCGGGAGGUGAAGGUGAUC
		ACCCUGAAGUCCAAGCUGGUGUCCGACUUC
		CGGAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUGCGG
		GAGAUCAACAACUACCACCACGCCCACGAC
		GCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGCACCGCC
		CUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGUCC
		GAGUUCGUGUACGGCGACUACAAGGUGUAC
		GACGUGCGGAAGAUGAUCGCCAAGUCCGAG
		CAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCCAAGUAC
		UUCUUCUACUCCAACAUCAUGAACUUCUUC
		AAGACCGAGAUCACCCUGGCCAACGGCGAG
		AUCCGGAAGCGGCCCCUGAUCGAGACCAAC
		GGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGGGACAAG
		GGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGGAAGGUG
		CUGUCCAUGCCCCAGGUGAACAUCGUGAAG
		AAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGCUUCUCC
		AAGGAGUCCAUCCUGCCCAAGCGGAACUCC
		GACAAGCUGAUCGCCCGGAAGAAGGACUGG
		GACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUCGACUCC
		CCCACCGUGGCCUACUCCGUGCUGGUGGUG
		GCCAAGGUGGAGAAGGGCAAGUCCAAGAA
		GCUGAAGUCCGUGAAGGAGCUGCUGGGCAU
		CACCAUCAUGGAGCGGUCCUCCUUCGAGAA
		GAACCCCAUCGACUUCCUGGAGGCCAAGGG
		CUACAAGGAGGUGAAGAAGGACCUGAUCA
		UCAAGCUGCCCAAGUACUCCCUGUUCGAGC
		UGGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGCUGGCCU
		CCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCAACGAGC

[1153]

SEQ ID NO	说明	序列
		UGGCCCUGCCCUCCAAGUACGUGAACUUCC
		UGUACCUGGCCUCCCACUACGAGAAGCUGA
		AGGGCUCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGC
		AGCUGUUCGUGGAGCAGCACAAGCACUACC
		UGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCUCCGAGU
		UCUCCAAGCGGGUGAUCCUGGCCGACGCCA
		ACCUGGACAAGGUGCUGUCCGCCUACAACA
		AGCACCGGGACAAGCCCAUCCGGGAGCAGG
		CCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCACCCUGA
		CCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCUUCAAGU
		ACUUCGACACCACCAUCGACCGGAAGCGGU
		ACACCUCCACCAAGGAGGUGCUGGACGCCA
		CCCUGAUCCACCAGUCCAUCACCGGCCUGU
		ACGAGACCCGGAUCGACCUGUCCCAGCUGG
		GCGGCGACUCCGGCGGCUCCGGCGGCUCCG
		GCGGCUCCACCAACCUGUCCGACAUCAUCG
		AGAAGGAGACCGGCAAGCAGCUGGUGAUCC
		AGGAGUCCAUCCUGAUGCUGCCCGAGGAGG
		UGGAGGAGGUGAUCGGCAACAAGCCCGAGU
		CCGACAUCCUGGUGCACACCGCCUACGACG
		AGUCCACCGACGAGAACGUGAUGCUGCUGA
		CCUCCGACGCCCCCGAGUACAAGCCCUGGG
		CCCUGGUGAUCCAGGACUCCAACGGCGAGA
		ACAAGAUCAAGAUGCUGUCCGGCGGCUCCG
		GCGGCUCCGGCGGCUCCACCAACCUGUCCG
		ACAUCAUCGAGAAGGAGACCGGCAAGCAGC
		UGGUGAUCCAGGAGUCCAUCCUGAUGCUGC
		CCGAGGAGGUGGAGGAGGUGAUCGGCAAC
		AAGCCCGAGUCCGACAUCCUGGUGCACACC
		GCCUACGACGAGUCCACCGACGAGAACGUG
		AUGCUGCUGACCUCCGACGCCCCCGAGUAC
		AAGCCCUGGGCCCUGGUGAUCCAGGACUCC
		AACGGCGAGAACAAGAUCAAGAUGCUGUCC
		GGCGGCUCCAAGCGGACCGCCGACGGCUCC
		GAGUUCGAGCCCAAGAAGAAGCGGAAGGU
		GUGAUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACC
		CGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCA
		ACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAA
		AAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAA
		AAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAA
		AAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAAACGGA
		AAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAAUAU
		AAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACG
		AAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACU
		CAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAC
		CUAAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAA
		GGGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAA
		ACACAAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAA

[1154]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAUCGAAAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAA AAACGAAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAA AAAGACAAAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAA AAAAGUUAAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAA AAAAAUUUAAAAAAAAAAAAAUCUAG
20	BE4MAX 蛋白的开放阅读框	AUGAAGCGGACCGCCGACGGCUCCGAGUUC GAGUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUCC UCCGAGACCGGCCCCGUGGCCGUGGACCCC ACCCUGCGGCGGCGGAUCGAGCCCCACGAG UUCGAGGUGUUCUUCGACCCCCGGGAGCUG CGGAAGGAGACCUGCCUGCUGUACGAGAUC AACUGGGGCGGCCGGCACUCCAUCUGGCGG CACACCUCCCAGAACACCAACAAGCACGUG GAGGUGAACUUCAUCGAGAAGUUCACCACC GAGCGGUACUUCUGCCCCAACACCCGGUGC UCCAUCACCUGGUUCCUGUCCUGGUCCCCC UGCGGCGAGUGCUCCCGGGCCAUCACCGAG UUCCUGUCCCGGUACCCCCACGUGACCCUG UUCAUCUACAUCGCCCGGCUGUACCACCAC GCCGACCCCCGGAACCGGCAGGGCCUGCGG GACCUGAUCUCCUCCGGCGUGACCAUCCAG AUCAUGACCGAGCAGGAGUCCGGCUACUGC UGGCGGAACUUCGUGAACUACUCCCCCUCC AACGAGGCCCACUGGCCCCGGUACCCCCAC CUGUGGGUGCGGCUGUACGUGCUGGAGCUG UACUGCAUCAUCCUGGGCCUGCCCCCCUGC CUGAACAUCCUGCGGCGGAAGCAGCCCCAG CUGACCUUCUUCACCAUCGCCCUGCAGUCC UGCCACUACCAGCGGCUGCCCCCCCACAUC CUGUGGGCCACCGGCCUGAAGUCCGGCGGC UCCUCCGGCGGCUCCUCCGGCUCCGAGACC CCCGGCACCUCCGAGUCCGCCACCCCCGAG UCCUCCGGCGGCUCCUCCGGCGGCUCCGAC AAGAAGUACUCCAUCGGCCUGGCCAUCGGC ACCAACUCCGUGGGCUGGGCCGUGAUCACC GACGAGUACAAGGUGCCCUCCAAGAAGUUC AAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGCACUCC AUCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCCCUGCUG UUCGACUCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACC CGGCUGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGUAC ACCCGGCGGAAGAACCGGAUCUGCUACCUG CAGGAGAUCUUCUCCAACGAGAUGGCCAAG GUGGACGACUCCUUCUUCCACCGGCUGGAG GAGUCCUUCCUGGUGGAGGAGGACAAGAA GCACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGCAACAU CGUGGACGAGGUGGCCUACCACGAGAAGUA CCCCACCAUCUACCACCUGCGGAAGAAGCU GGUGGACUCCACCGACAAGGCCGACCUGCG

[1155]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCUGAUCUACCUGGCCCUGGCCCACAUGAU
		CAAGUUCCGGGGCCACUUCCUGAUCGAGGG
		CGACCUGAACCCCGACAACUCCGACGUGGA
		CAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACCUA
		CAACCAGCUGUUCGAGGAGAACCCCAUCAA
		CGCCUCCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUCCU
		GUCCGCCCGGCUGUCCAAGUCCCGGCGGCU
		GGAGAACCUGAUCGCCCAGCUGCCCGGCGA
		GAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAACCUGAU
		CGCCCUGUCCCUGGGCCUGACCCCCAACUU
		CAAGUCCAACUUCGACCUGGCCGAGGACGC
		CAAGCUGCAGCUGUCCAAGGACACCUACGA
		CGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCCAGAU
		CGGCGACCAGUACGCCGACCUGUUCCUGGC
		CGCCAAGAACCUGUCCGACGCCAUCCUGCU
		GUCCGACAUCCUGCGGGUGAACACCGAGAU
		CACCAAGGCCCCCCUGUCCGCCUCCAUGAU
		CAAGCGGUACGACGAGCACCACCAGGACCU
		GACCCUGCUGAAGGCCCUGGUGCGGCAGCA
		GCUGCCCGAGAAGUACAAGGAGAUCUUCUU
		CGACCAGUCCAAGAACGGCUACGCCGGCUA
		CAUCGACGGCGGCGCCUCCCAGGAGGAGUU
		CUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUGGAGAA
		GAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUGAA
		GCUGAACCGGGAGGACCUGCUGCGGAAGCA
		GCGGACCUUCGACAACGGCUCCAUCCCCCA
		CCAGAUCCACCUGGGCGAGCUGCACGCCAU
		CCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCCUU
		CCUGAAGGACAACCGGGAGAAGAUCGAGAA
		GAUCCUGACCUUCCGGAUCCCCUACUACGU
		GGGCCCCCUGGCCCGGGGCAACUCCCGGUU
		CGCCUGGAUGACCCGGAAGUCCGAGGAGAC
		CAUCACCCCCUGGAACUUCGAGGAGGUGGU
		GGACAAGGGCGCCUCCGCCCAGUCCUUCAU
		CGAGCGGAUGACCAACUUCGACAAGAACCU
		GCCCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAGCACUC
		CCUGCUGUACGAGUACUUCACCGUGUACAA
		CGAGCUGACCAAGGUGAAGUACGUGACCGA
		GGGCAUGCGGAAGCCCGCCUUCCUGUCCGG
		CGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUGCU
		GUUCAAGACCAACCGGAAGGUGACCGUGAA
		GCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAAGAAGA
		UCGAGUGCUUCGACUCCGUGGAGAUCUCCG
		GCGUGGAGGACCGGUUCAACGCCUCCCUGG
		GCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCA
		AGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGAGA
		ACGAGGACAUCCUGGAGGACAUCGUGCUGA
		CCCUGACCCUGUUCGAGGACCGGGAGAUGA

[1156]

SEQ ID NO	说明	序列
		UCGAGGAGCGGCUGAAGACCUACGCCCACC
		UGUUCGACGACAAGGUGAUGAAGCAGCUG
		AAGCGGCGGCGGUACACCGGCUGGGGCCGG
		CUGUCCCGGAAGCUGAUCAACGGCAUCCGG
		GACAAGCAGUCCGGCAAGACCAUCCUGGAC
		UUCCUGAAGUCCGACGGCUUCGCCAACCGG
		AACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACUCC
		CUGACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAAGGCC
		CAGGUGUCCGGCCAGGGCGACUCCCUGCAC
		GAGCACAUCGCCAACCUGGCCGGCUCCCCC
		GCCAUCAAGAAGGGCAUCCUGCAGACCGUG
		AAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGAU
		GGGCCGGCACAAGCCCGAGAACAUCGUGAU
		CGAGAUGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCA
		GAAGGGCCAGAAGAACUCCCGGGAGCGGAU
		GAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUCAAGGAGC
		UGGGCUCCCAGAUCCUGAAGGAGCACCCCG
		UGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAGAAGC
		UGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCCGGG
		ACAUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUCA
		ACCGGCUGUCCGACUACGACGUGGACCACA
		UCGUGCCCCAGUCCUUCCUGAAGGACGACU
		CCAUCGACAACAAGGUGCUGACCCGGUCCG
		ACAAGAACCGGGGCAAGUCCGACAACGUGC
		CCUCCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAUGAAG
		AACUACUGGCGGCAGCUGCUGAACGCCAAG
		CUGAUCACCCAGCGGAAGUUCGACAACCUG
		ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGUCCGAG
		CUGGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGCGGCAG
		CUGGUGGAGACCCGGCAGAUCACCAAGCAC
		GUGGCCCAGAUCCUGGACUCCCGGAUGAAC
		ACCAAGUACGACGAGAACGACAAGCUGAUC
		CGGGAGGUGAAGGUGAUCACCCUGAAGUCC
		AAGCUGGUGUCCGACUUCCGGAAGGACUUC
		CAGUUCUACAAGGUGCGGGAGAUCAACAAC
		UACCACCACGCCCACGACGCCUACCUGAAC
		GCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUCAAGAAG
		UACCCCAAGCUGGAGUCCGAGUUCGUGUAC
		GGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGGAAG
		AUGAUCGCCAAGUCCGAGCAGGAGAUCGGC
		AAGGCCACCGCCAAGUACUUCUUCUACUCC
		AACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUC
		ACCCUGGCCAACGGCGAGAUCCGGAAGCGG
		CCCCUGAUCGAGACCAACGGCGAGACCGGC
		GAGAUCGUGUGGGACAAGGGCCGGGACUUC
		GCCACCGUGCGGAAGGUGCUGUCCAUGCCC
		CAGGUGAACAUCGUGAAGAAGACCGAGGU
		GCAGACCGGCGGCUUCUCCAAGGAGUCCAU

[1157]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCUGCCCAAGCGGAACUCCGACAAGCUGAU CGCCCGGAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAA GUACGGCGGCUUCGACUCCCCCACCGUGGC CUACUCCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGA GAAGGGCAAGUCCAAGAAGCUGAAGUCCGU GAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGA GCGGUCCUCCUUCGAGAAGAACCCCAUCGA CUUCCUGGAGGCCAAGGGCUACAAGGAGGU GAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCAA GUACUCCCUGUUCGAGCUGGAGAACGGCCG GAAGCGGAUGCUGGCCUCCGCCGGCGAGCU GCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCUGCCCUC CAAGUACGUGAACUUCCUGUACCUGGCCUC CCACUACGAGAAGCUGAAGGGCUCCCCCGA GGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGA GCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAU CGAGCAGAUCUCCGAGUUCUCCAAGCGGGU GAUCCUGGCCGACGCCAACCUGGACAAGGU GCUGUCCGCCUACAACAAGCACCGGGACAA GCCCAUCCGGGAGCAGGCCGAGAACAUCAU CCACCUGUUCACCCUGACCAACCUGGGCGC CCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACACCAC CAUCGACCGGAAGCGGUACACCUCCACCAA GGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCCACCA GUCCAUCACCGGCCUGUACGAGACCCGGAU CGACCUGUCCCAGCUGGGCGGCGACUCCGG CGGCUCCGGCGGCUCCGGCGGCUCCACCAA CCUGUCCGACAUCAUCGAGAAGGAGACCGG CAAGCAGCUGGUGAUCCAGGAGUCCAUCCU GAUGCUGCCCGAGGAGGUGGAGGAGGUGA UCGGCAACAAGCCCGAGUCCGACAUCCUGG UGCACACCGCCUACGACGAGUCCACCGACG AGAACGUGAUGCUGCUGACCUCCGACGCCC CCGAGUACAAGCCCUGGGCCCUGGUGAUCC AGGACUCCAACGGCGAGAACAAGAUCAAGA UGCUGUCCGGCGGCUCCGGCGGCUCCGGCG GCUCCACCAACCUGUCCGACAUCAUCGAGA AGGAGACCGGCAAGCAGCUGGUGAUCCAGG AGUCCAUCCUGAUGCUGCCCGAGGAGGUGG AGGAGGUGAUCGGCAACAAGCCCGAGUCCG ACAUCCUGGUGCACACCGCCUACGACGAGU CCACCGACGAGAACGUGAUGCUGCUGACCU CCGACGCCCCCGAGUACAAGCCCUGGGCCC UGGUGAUCCAGGACUCCAACGGCGAGAACA AGAUCAAGAUGCUGUCCGGCGGCUCCAAGC GGACCGCCGACGGCUCCGAGUUCGAGCCCA AGAAGAAGCGGAAGGUGUGAUAG
21	BE4MAX 蛋白的氨	MKRTADGSEFESPKKKRKVSSETGPVAVDPTLR

[1158]

SEQ ID NO	说明	序列
	基酸序列	RRIEPHEFEVFFDPRELRKETCLLYEINWGGRH SIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTR CSITWFLSWSPCGECSRAITEFLSRYPHVTLFIYI ARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQES GYCWRNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVL ELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQSCHY QRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGSETPGTSESA TPESSGGSSGGSDKKYSIGLAIGTNSVGWAVIT DEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDS GETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSN EMAKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGN IVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLI YLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQ LVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSR RLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFK SNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQ YADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSA SMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFF DQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMD GTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLG ELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYY VGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVD KGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLY EYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKA IVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEI SGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENE DILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKV MKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTI LDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQ VSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVD ELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNS RERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIV PQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEV VKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERG GLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRM NTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQF YKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKL ESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKY FFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETG EIVWDKGRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQT GGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGF DSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGIT IMERSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKY SLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYV NFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHY LDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRD KPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDR

[1159]

SEQ ID NO	说明	序列
		KRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGG DSGGSGGSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILM LPEEVEEVIGNKPESDILVHTAYDESTDENVML LTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSG GSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVE EVIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAP EYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSKRTADGS EFEPKKKRKV**
22	智人 APOBEC3A 脱氨酶(A3A)的氨基酸序列，参见 BC22	MEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYL CYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLC GFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTWFIS WSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARI YDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKH CWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLR AILQNQGN
23		未使用
24	示例性 UGI	TNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGN KPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPW ALVIQDSNGENKIKML
25	示例性 XTEN	SGSETPGTSESATPES
26	示例性 XTEN	SGSETPGTSESA
27	示例性 XTEN	SGSETPGTSESATPEGGSGGS
28	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKEAAAK
29	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSGGGGS
30	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKEAAAK
31	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
32	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSEAAAKEAAAK
33	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKGGGGSGGGGS
34	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKEAAAKGGGGSGGGGS
35	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKEAAAKEAAAK
36	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKEAAAKGGGGSEAAAK
37	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKGGGGSGGGGSGGGGS
38	示例性接头的氨基	EAAAKEAAAKGGGGSGGGGSEAAAK

[1160]

SEQ ID NO	说明	序列
	酸序列	
39	示例性接头 SGGS 的氨基酸序列	SGGS
40	SV40 NLS 的氨基酸序列	PKKKRKV
41	具有作为 C 末端 7 氨基酸的 1x NLS 的 Cas9 切口酶 (D10A)的氨基酸序列	MDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKF KVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLK RTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFF HRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEK YPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKF RGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFE ENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLP GEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAK LQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAK NLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEH HQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKL NREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQ EDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNS RFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIE RMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELT KVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNR KVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNAS LGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLT LFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRY TGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFA NRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLH EHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGR HKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIE EGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQN GRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDD SIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKN YWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDK AGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDEN DKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREIN NYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKLESEFVYG DYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIM NFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDK GRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKE SILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVA YSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSS FEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELE NGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYL ASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEII EQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIR EQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYT STKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGGDGG

[1161]

SEQ ID NO	说明	序列
		GSPKKKRKV
42	使用如表 3 中所列示的最小尿苷密码子(无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)的 Cas9 切口酶(D10A) mRNA 编码序列	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUC GGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUC ACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAG UUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACAC AGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUG CUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAG AUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCU ACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGG CAAAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGAC UGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGAC AAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGA AACAUCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAA AAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAG AAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CUGAGACUGAUCUACCUGGCACUGGCACAC AUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUC GAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGAC GUCGACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAG ACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCG AUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCA AUCCUGAGCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGA AGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCG GGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAA CCUGAUCGCACUGAGCCUGGGACUGACACC GAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGA AGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACAC AUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGC ACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUU CCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAU CCUGCUGAGCGACAUCCUGAGAGUCAACAC AGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAG CAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCA GGACCUGACACUGCUGAAGGCACUGGUCAG ACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAU CUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGC AGGAUACAUCGACGGAGGAGCAAGCCAGGA AGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCU GGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGC UGGUCAAGCUGAACAGAGAAGACCUGCUGA GAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCA UCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGC ACGCAAUCCUGAGAAGACAGGAAGACUUCU ACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGA UCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGU ACUACGUCGGACCGCUGGCAAGAGGAAACA GCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGC

[1162]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAA
		GAAGUCGUCGACAAGGGAGCAAGCGCACAG
		AGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGAC
		AAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCG
		AAGCACAGCCUGCUGUACGAAUACUUCACA
		GUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUAC
		GUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUC
		CUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAAUCGUC
		GACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUC
		ACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUC
		AAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCGUCGAA
		AUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCA
		AGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAG
		AUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAAC
		GAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUC
		GUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGA
		GAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACAUA
		CGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAA
		GCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAU
		GGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAAC
		GGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGAC
		AAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUU
		CGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA
		CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAU
		CCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGA
		CAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGC
		AGGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCU
		GCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGU
		CAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAA
		CAUCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCA
		GACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAG
		AGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAA
		UCAAGGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGG
		AACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGA
		ACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGA
		ACGGAAGAGACAUGUACGUCGACCAGGAAC
		UGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACG
		UCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGA
		AGGACGACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGA
		CAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGC
		GACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAG
		AAGAUGAAGAACUACUGGAGACAGCUGCU
		GAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUU
		CGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGG
		ACUGAGCGAACUGGACAAGGCAGGAUUCAU
		CAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAU
		CACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAG
		CAGAAUGAACACAAAGUACGACGAAAACGA

[1163]

SEQ ID NO	说明	序列
		CAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCAC ACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAG AAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUCAGAGA AAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGC AUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACU GAUCAAGAAGUACCCGAAGCUGGAAAGCGA AUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGA CGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACA GGAAAUCGGAAAGGCAACAGCAAAGUACU UCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCA AGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAA UCAGAAAGAGACCGCUGAUCGAAACAAACG GAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAG GGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUC CUGAGCAUGCCGCAGGUCAACAUCGUCAAG AAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGC AAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGC GACAAGCUGAUCGCAAGAAAGAAGGACUG GGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAG CCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGU CGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAGCAAGA AGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGA AUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAA AAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCAAAG GGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAU CAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGA ACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACG AACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACU UCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGC UGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGA AGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACU ACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCG AAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACG CAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACA ACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACAC UGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCA AGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGA GAUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACG CAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGAC UGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGC UGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAG AAGAAGAGAAAGGUC
43	Cas9 切口酶(不含NLS)的氨基酸序列	MDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKF KVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLK RTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFF HRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEK

[1164]

SEQ ID NO	说明	序列
		YPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKF RGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFE ENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLP GEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAK LQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAK NLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEH HQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKL NREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQ EDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNS RFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIE RMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELT KVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNR KVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNAS LGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLT LFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRY TGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFA NRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLH EHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGR HKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIE EGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQN GRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDD SIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKN YWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDK AGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDEN DKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREIN NYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKLESEFVYG DYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIM NFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDK GRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKE SILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVA YSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSS FEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELE NGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYL ASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEII EQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIR EQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYT STKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGGD
44	使用如表 3 中所列示的最小尿苷密码子(无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)，编码 SEQ ID NO: 43 的 Cas9 切口酶编码序列	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUC GGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUC ACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAG UUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACAC AGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUG CUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAG AUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCU ACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGG CAAAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGAC

[1165]

SEQ ID NO	说明	序列
		UGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGAC
		AAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGA
		AACAUCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAA
		AAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAG
		AAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGAC
		CUGAGACUGAUCUACCUGGCACUGGCACAC
		AUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUC
		GAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGAC
		GUCGACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAG
		ACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCG
		AUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCA
		AUCCUGAGCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGA
		AGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCG
		GGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAA
		CCUGAUCGCACUGAGCCUGGGACUGACACC
		GAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGA
		AGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACAC
		AUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGC
		ACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUU
		CCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAU
		CCUGCUGAGCGACAUCCUGAGAGUCAACAC
		AGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAG
		CAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCA
		GGACCUGACACUGCUGAAGGCACUGGUCAG
		ACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAU
		CUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGC
		AGGAUACAUCGACGGAGGAGCAAGCCAGGA
		AGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCU
		GGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGC
		UGGUCAAGCUGAACAGAGAAGACCUGCUGA
		GAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCA
		UCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGC
		ACGCAAUCCUGAGAAGACAGGAAGACUUCU
		ACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGA
		UCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGU
		ACUACGUCGGACCGCUGGCAAGAGGAAACA
		GCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGC
		GAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAA
		GAAGUCGUCGACAAGGGAGCAAGCGCACAG
		AGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGAC
		AAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCG
		AAGCACAGCCUGCUGUACGAAUACUUCACA
		GUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUAC
		GUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUC
		CUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAAUCGUC
		GACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUC
		ACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUC
		AAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCGUCGAA

[1166]

SEQ ID NO	说明	序列
		AUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCA
		AGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAG
		AUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAAC
		GAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUC
		GUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGA
		GAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACAUA
		CGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAA
		GCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAU
		GGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAAC
		GGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGAC
		AAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUU
		CGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA
		CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAU
		CCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGA
		CAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGC
		AGGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCU
		GCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGU
		CAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAA
		CAUCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCA
		GACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAG
		AGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAA
		UCAAGGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGG
		AACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGA
		ACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGA
		ACGGAAGAGACAUGUACGUCGACCAGGAAC
		UGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACG
		UCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGA
		AGGACGACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGA
		CAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGC
		GACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAG
		AAGAUGAAGAACUACUGGAGACAGCUGCU
		GAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUU
		CGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGG
		ACUGAGCGAACUGGACAAGGCAGGAUUCAU
		CAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAU
		CACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAG
		CAGAAUGAACACAAAGUACGACGAAAACGA
		CAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCAC
		ACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAG
		AAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUCAGAGA
		AAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGC
		AUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACU
		GAUCAAGAAGUACCCGAAGCUGGAAAGCGA
		AUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGA
		CGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACA
		GGAAAUCGGAAAGGCAACAGCAAAGUACU
		UCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCA
		AGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAA

[1167]

SEQ ID NO	说明	序列
		UCAGAAAGAGACCGCUGAUCGAAACAAACG GAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAG GGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUC CUGAGCAUGCCGCAGGUCAACAUCGUCAAG AAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGC AAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGC GACAAGCUGAUCGCAAGAAAGAAGGACUG GGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAG CCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGU CGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAGCAAGA AGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGA AUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAA AAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCAAAG GGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAU CAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGA ACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACG AACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACU UCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGC UGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGA AGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACU ACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCG AAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACG CAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACA ACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACAC UGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCA AGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGA GAUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACG CAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGAC UGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGC UGGGAGGAGAC
45	具有两个核定位信号作为 C 末端氨基酸的 Cas9 切口酶的氨基酸序列	DKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKV LGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRT ARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFFH RLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKY PTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFR GHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFEE NPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPG EKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKL QLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKN LSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHH QDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAG YIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLN REDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQE DFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSR FAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIER MTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTK

[1168]

SEQ ID NO	说明	序列
		VKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRK VTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASL GTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTL FEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYT GWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFAN RNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHE HIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRH KPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEE GIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNG RDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDS IDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNY WRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKA GFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDEND KLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINN YHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKLESEFVYGD YKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMN FFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGR DFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESIL PKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSV LVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEK NPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENG RKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASH YEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQIS EFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQA ENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTK EVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGGDGSGSPK KKRKVDGSPKKKRKVDSG
46	使用如表 3 中所列示的最小尿苷密码子(无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)，编码 SEQ ID NO: 45 的 Cas9 切口酶编码序列	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUC GGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUC ACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAG UUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACAC AGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUG CUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAG AUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCU ACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGG CAAAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGAC UGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGAC AAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGA AACAUCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAA AAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAG AAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CUGAGACUGAUCUACCUGGCACUGGCACAC AUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUC GAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGAC GUCGACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAG ACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCG AUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCA

[1169]

SEQ ID NO	说明	序列
		AUCCUGAGCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGA
		AGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCG
		GGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAA
		CCUGAUCGCACUGAGCCUGGGACUGACACC
		GAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGA
		AGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACAC
		AUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGC
		ACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUU
		CCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAU
		CCUGCUGAGCGACAUCCUGAGAGUCAACAC
		AGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAG
		CAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCA
		GGACCUGACACUGCUGAAGGCACUGGUCAG
		ACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAU
		CUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGC
		AGGAUACAUCGACGGAGGAGCAAGCCAGGA
		AGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCU
		GGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGC
		UGGUCAAGCUGAACAGAGAAGACCUGCUGA
		GAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCA
		UCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGC
		ACGCAAUCCUGAGAAGACAGGAAGACUUCU
		ACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGA
		UCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGU
		ACUACGUCGGACCGCUGGCAAGAGGAAACA
		GCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGC
		GAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAA
		GAAGUCGUCGACAAGGGAGCAAGCGCACAG
		AGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGAC
		AAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCG
		AAGCACAGCCUGCUGUACGAAUACUUCACA
		GUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUAC
		GUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUC
		CUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAAUCGUC
		GACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUC
		ACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUC
		AAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCGUCGAA
		AUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCA
		AGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAG
		AUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAAC
		GAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUC
		GUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGA
		GAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACAUA
		CGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAA
		GCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAU
		GGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAAC
		GGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGAC
		AAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUU

[1170]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA
		CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAU
		CCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGA
		CAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGC
		AGGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCU
		GCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGU
		CAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAA
		CAUCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCA
		GACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAG
		AGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAA
		UCAAGGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGG
		AACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGA
		ACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGA
		ACGGAAGAGACAUGUACGUCGACCAGGAAC
		UGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACG
		UCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGA
		AGGACGACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGA
		CAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGC
		GACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAG
		AAGAUGAAGAACUACUGGAGACAGCUGCU
		GAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUU
		CGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGG
		ACUGAGCGAACUGGACAAGGCAGGAUUCAU
		CAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAU
		CACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAG
		CAGAAUGAACACAAAGUACGACGAAAACGA
		CAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCAC
		ACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAG
		AAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUCAGAGA
		AAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGC
		AUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACU
		GAUCAAGAAGUACCCGAAGCUGGAAAGCGA
		AUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGA
		CGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACA
		GGAAAUCGGAAAGGCAACAGCAAAGUACU
		UCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCA
		AGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAA
		UCAGAAAGAGACCGCUGAUCGAAACAAACG
		GAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAG
		GGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUC
		CUGAGCAUGCCGCAGGUCAACAUCGUCAAG
		AAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGC
		AAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGC
		GACAAGCUGAUCGCAAGAAAGAAGGACUG
		GGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAG
		CCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGU
		CGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAGCAAGA
		AGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGA

[1171]

SEQ ID NO	说明	序列
		AUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAA AAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCAAAG GGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAU CAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGA ACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACG AACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACU UCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGC UGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGA AGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACU ACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCG AAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACG CAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACA ACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACAC UGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCA AGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGA GAUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACG CAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGAC UGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGC UGGGAGGAGACGGAAGCGGAAGCCCGAAG AAGAAGAGAAAGGUCGACGGAAGCCCGAA GAAGAAGAGAAAGGUCGACAGCGGA
47	使用表 4 的低 A 密码子的 Cas9 切口酶 ORF，具有起始和终止密码子	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCA TCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGAT CACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAA GTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCA CTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTG CTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCCA CCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGT ACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCT GCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCCAAG GTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGG AGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGC ACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGT GGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCC ACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGG ACTCCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGAT CTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCC GGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAA CCCCGACAACTCCGACGTGGACAAGCTGTTC ATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGT TCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGT GGACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGGCTG TCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCG CCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCC TGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGG CCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGAC

[1172]

SEQ ID NO	说明	序列
		CTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCA AGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCT GCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGAC CTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACG CCATCCTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAA CACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCC TCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACC AGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCG GCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGAT CTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGG AGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGA GAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGT GAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAA GCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCC CACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCA TCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTT CCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAA GATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTACGTGG GCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGC CTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATC ACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGAC AAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGC GGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAA CGAGAAGGTGCTGCCCAAGCACTCCCTGCTG TACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGA CCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCG GAAGCCCGCCTTCCTGTCCGGCGAGCAGAAG AAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCA ACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGG AGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGA CTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGG TTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACC TGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCT GGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGA GGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAG GACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAG ACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGA TGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCG GCTGGGGCCGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAA CGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGAC CATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTC GCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACG ACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCA GAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTC CCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGC TCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGA CCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGG

[1173]

SEQ ID NO	说明	序列
		TGATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGT GATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCAC CCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCG GATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGA GCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCC GTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGG ACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAA CCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCA TCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACA AGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCCT CCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACT ACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGAT CACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACCAA GGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGA CAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTG GAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCC CAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGT ACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGG TGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAGCTGGT GTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTAC AAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACG CCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGG CACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTG GAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGG TGTACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGTC CGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAA GTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCT TCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGA GATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAAC GGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAG GGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTG CTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGA AGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCA AGGAGTCCATCCTGCCCAAGCGGAACTCCGA CAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGA CCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCC ACCGTGGCCTACTCCGTGCTGGTGGTGGCCA AGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGA AGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCAT CATGGAGCGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCC ATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGG AGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCC CAAGTACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGC CGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGC TGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTC CAAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCC

[1174]

SEQ ID NO	说明	序列
		CACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAG GACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCG AGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGAT CCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCA TCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCT GTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCC GCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACC GGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCT GGACGCCACCCTGATCCACCAGTCCATCACC GGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCC AGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCTCCCCCA AGAAGAAGCGGAAGGTGTGA
48	使用表 4 的低 A 密码子的 Cas9 切口酶 ORF，具有起始和终止密码子并且无 NLS	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCA TCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGAT CACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAA GTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCA CTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTG CTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCCA CCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGT ACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCT GCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCCAAG GTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGG AGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGC ACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGT GGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCC ACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGG ACTCCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGAT CTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCC GGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAA CCCCGACAACTCCGACGTGGACAAGCTGTTC ATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGT TCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGT GGACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGGCTG TCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCG CCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCC TGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGG CCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGAC CTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCA AGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCT GCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGAC CTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACG CCATCCTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAA CACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCC TCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACC AGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCG GCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGAT

[1175]

SEQ ID NO	说明	序列
		CTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGG AGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGA GAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGT GAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAA GCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCC CACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCA TCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTT CCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAA GATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTACGTGG GCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGC CTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATC ACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGAC AAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGC GGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAA CGAGAAGGTGCTGCCCAAGCACTCCCTGCTG TACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGA CCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCG GAAGCCCGCCTTCCTGTCCGGCGAGCAGAAG AAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCA ACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGG AGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGA CTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGG TTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACC TGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCT GGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGA GGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAG GACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAG ACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGA TGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCG GCTGGGGCCGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAA CGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGAC CATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTC GCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACG ACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCA GAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTC CCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGC TCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGA CCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGG TGATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGT GATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCAC CCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCG GATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGA GCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCC GTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGG ACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAA CCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATC

[1176]

SEQ ID NO	说明	序列
		GTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCA TCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACA AGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCCT CCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACT ACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGAT CACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACCAA GGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGA CAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTG GAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCC CAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGT ACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGG TGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAGCTGGT GTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTAC AAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACG CCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGG CACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTG GAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGG TGTACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGTC CGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAA GTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCT TCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGA GATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAAC GGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAG GGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTG CTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGA AGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCA AGGAGTCCATCCTGCCCAAGCGGAACTCCGA CAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGA CCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCC ACCGTGGCCTACTCCGTGCTGGTGGTGGCCA AGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGA AGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCAT CATGGAGCGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCC ATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGG AGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCC CAAGTACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGC CGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGC TGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTC CAAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCC CACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAG GACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCG AGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGAT CCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCA TCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCT GTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCC GCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACC

[1177]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCT GGACGCCACCCTGATCCACCAGTCCATCACC GGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCC AGCTGGGCGGCGACTGA
49	使用表 4 的低 A 密码子的 Cas9 切口酶 ORF，具有两个 C 末端 NLS 序列以及起始和终止密码子	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCA TCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGAT CACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAA GTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCA CTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTG CTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCCA CCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGT ACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCT GCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCCAAG GTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGG AGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGC ACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGT GGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCC ACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGG ACTCCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGAT CTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCC GGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAA CCCCGACAACTCCGACGTGGACAAGCTGTTC ATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGT TCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGT GGACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGGCTG TCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCG CCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCC TGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGG CCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGAC CTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCA AGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCT GCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGAC CTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACG CCATCCTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAA CACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCC TCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACC AGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCG GCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGAT CTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGG AGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGA GAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGT GAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAA GCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCC CACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCA TCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTT CCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAA GATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTACGTGG

[1178]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGC CTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATC ACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGAC AAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGC GGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAA CGAGAAGGTGCTGCCCAAGCACTCCCTGCTG TACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGA CCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCG GAAGCCCGCCTTCCTGTCCGGCGAGCAGAAG AAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCA ACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGG AGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGA CTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGG TTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACC TGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCT GGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGA GGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAG GACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAG ACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGA TGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCG GCTGGGGCCGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAA CGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGAC CATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTC GCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACG ACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCA GAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTC CCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGC TCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGA CCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGG TGATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGT GATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCAC CCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCG GATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGA GCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCC GTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGG ACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAA CCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCA TCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACA AGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCCT CCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACT ACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGAT CACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACCAA GGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGA CAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTG GAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCC CAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGT

[1179]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGG TGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAGCTGGT GTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTAC AAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACG CCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGG CACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTG GAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGG TGTACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGTC CGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAA GTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCT TCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGA GATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAAC GGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAG GGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTG CTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGA AGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCA AGGAGTCCATCCTGCCCAAGCGGAACTCCGA CAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGA CCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCC ACCGTGGCCTACTCCGTGCTGGTGGTGGCCA AGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGA AGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCAT CATGGAGCGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCC ATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGG AGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCC CAAGTACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGC CGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGC TGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTC CAAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCC CACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAG GACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCG AGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGAT CCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCA TCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCT GTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCC GCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACC GGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCT GGACGCCACCCTGATCCACCAGTCCATCACC GGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCC AGCTGGGCGGCGACGGCTCCGGCTCCCCCAA GAAGAAGCGGAAGGTGGACGGCTCCCCCAA GAAGAAGCGGAAGGTGGACTCCGGCTGA
50	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Cas9 切口酶 ORF，具有起	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCA TCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGAT CACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAA GTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCA

[1180]

SEQ ID NO	说明	序列
	始和终止密码子	CAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTG CTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGG TACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACC TGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCCAA GGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAG GAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAG CACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCG TGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCC CACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTG GACAGCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTG ATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTT CCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTG AACCCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTG TTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGC TGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGG CGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCCCGG CTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTG ATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAAC GGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCC TGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTT CGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCT GAGCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGA CAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTAC GCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGA GCGACGCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGCG GGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTG AGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGC ACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCT GGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAA GGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGC TACGCCGGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCC AGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCAT CCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCT GCTGGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCT GCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAG CATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTG CACGCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCT ACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGAT CGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACT ACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCC GGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGG AGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGT GGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTT CATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAAC CTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACA ACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCG

[1181]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGCGG CGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCT GTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAA GCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATC GAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCG TGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCA CCTACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGA CAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGA GGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTG ACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGG AGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGA CGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCG GCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGAGCCG GAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCA GAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAG AGCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGC AGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAA GGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGG CCAGGGCGACAGCCTGCACGAGCACATCGCC AACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAG GGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACG AGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGC CCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGA GAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAA CAGCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGA GGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTG AAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTG CAGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGC AGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGG AGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGA CGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTG AAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTG ACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGC GACAACGTGCCCAGCGAGGAGGTGGTGAAG AAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGA ACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGA CAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCT GAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAA GCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCAC CAAGCACGTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGG ATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAG CTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGA AGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGG ACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAA CAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTG AACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGA AGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTA CGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAA

[1182]

SEQ ID NO	说明	序列
		GATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGC AAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCA ACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCAC CCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCC CCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGA GATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGG TGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGA CCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCC CAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCG GAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGG CGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAGC GTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGC AAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAG CTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGGAGCA GCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGA GGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGA CCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTG TTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATG CTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGC AACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAGTACGTGA ACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAA GCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCA GAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCA CTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGC GAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACG CCAACCTGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAA CAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCA GGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTG ACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGT ACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTA CACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCAC CCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTAC GAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGC GGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAG CGGAAGGTGTGA
51	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Cas9 切口酶 ORF，具有两个 C 末端 NLS 序列以及起始和终止密码子	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCA TCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGAT CACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAA GTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCA CAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTG CTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGG TACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACC TGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCCAA GGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAG GAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAG CACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCG

[1183]

SEQ ID NO	说明	序列
		TGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCC CACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTG GACAGCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTG ATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTT CCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTG AACCCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTG TTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGC TGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGG CGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCCCGG CTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTG ATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAAC GGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCC TGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTT CGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCT GAGCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGA CAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTAC GCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGA GCGACGCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGCG GGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTG AGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGC ACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCT GGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAA GGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGC TACGCCGGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCC AGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCAT CCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCT GCTGGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCT GCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAG CATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTG CACGCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCT ACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGAT CGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACT ACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCC GGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGG AGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGT GGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTT CATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAAC CTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACA ACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCG AGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGCGG CGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCT GTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAA GCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATC GAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCG TGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCA CCTACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGA CAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGA

[1184]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTG ACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGG AGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGA CGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCG GCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGAGCCG GAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCA GAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAG AGCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGC AGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAA GGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGG CCAGGGCGACAGCCTGCACGAGCACATCGCC AACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAG GGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACG AGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGC CCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGA GAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAA CAGCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGA GGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTG AAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTG CAGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGC AGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGG AGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGA CGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTG AAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTG ACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGC GACAACGTGCCCAGCGAGGAGGTGGTGAAG AAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGA ACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGA CAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCT GAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAA GCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCAC CAAGCACGTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGG ATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAG CTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGA AGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGG ACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAA CAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTG AACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGA AGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTA CGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAA GATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGC AAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCA ACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCAC CCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCC CCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGA GATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGG TGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGA

[1185]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCC CAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCG GAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGG CGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAGC GTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGC AAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAG CTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGGAGCA GCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGA GGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGA CCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTG TTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATG CTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGC AACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAGTACGTGA ACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAA GCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCA GAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCA CTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGC GAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACG CCAACCTGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAA CAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCA GGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTG ACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGT ACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTA CACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCAC CCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTAC GAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGC GGCGACGGCAGCGGCAGCCCCAAGAAGAAG CGGAAGGTGGACGGCAGCCCCAAGAAGAAG CGGAAGGTGGACAGCGGCTGA
52	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Cas9 切口酶 ORF，具有起始和终止密码子并且无 NLS	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCA TCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGAT CACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAA GTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCA CAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTG CTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGG TACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACC TGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCCAA GGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAG GAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAG CACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCG TGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCC CACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTG GACAGCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTG ATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTT CCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTG AACCCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTG TTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGC

[1186]

SEQ ID NO	说明	序列
		TGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGG CGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCCCGG CTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTG ATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAAC GGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCC TGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTT CGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCT GAGCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGA CAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTAC GCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGA GCGACGCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGCG GGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTG AGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGC ACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCT GGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAA GGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGC TACGCCGGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCC AGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCAT CCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCT GCTGGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCT GCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAG CATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTG CACGCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCT ACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGAT CGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACT ACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCC GGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGG AGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGT GGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTT CATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAAC CTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACA ACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCG AGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGCGG CGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCT GTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAA GCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATC GAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCG TGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCA CCTACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGA CAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGA GGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTG ACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGG AGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGA CGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCG GCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGAGCCG GAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCA GAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAG

[1187]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGC AGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAA GGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGG CCAGGGCGACAGCCTGCACGAGCACATCGCC AACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAG GGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACG AGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGC CCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGA GAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAA CAGCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGA GGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTG AAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTG CAGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGC AGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGG AGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGA CGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTG AAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTG ACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGC GACAACGTGCCCAGCGAGGAGGTGGTGAAG AAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGA ACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGA CAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCT GAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAA GCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCAC CAAGCACGTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGG ATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAG CTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGA AGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGG ACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAA CAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTG AACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGA AGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTA CGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAA GATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGC AAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCA ACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCAC CCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCC CCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGA GATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGG TGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGA CCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCC CAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCG GAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGG CGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAGC GTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGC AAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAG CTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGGAGCA

[1188]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGA GGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGA CCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTG TTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATG CTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGC AACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAGTACGTGA ACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAA GCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCA GAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCA CTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGC GAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACG CCAACCTGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAA CAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCA GGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTG ACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGT ACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTA CACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCAC CCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTAC GAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGC GGCGACTGA
53	使用表 4 的低 A 密码子的 Cas9 切口酶 ORF (无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCG GCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCAC CGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAGTTC AAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCC ATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGT TCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCC GGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACA CCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCA GGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCCAAGGTG GACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGT CCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACG AGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGA CGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACC ATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACT CCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCTA CCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGG GGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACC CCGACAACTCCGACGTGGACAAGCTGTTCAT CCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTC GAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGG ACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGGCTGTC CAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCC CAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTG TTCGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGGCC TGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCT GGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAA GGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCTG CTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACC

[1189]

SEQ ID NO	说明	序列
		TGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGC CATCCTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAAC ACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCT CCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCA GGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGG CAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCT TCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGG CTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAG TTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGA AGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGA AGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGC AGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCA CCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATC CTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCC TGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGA TCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTACGTGGGC CCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCT GGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCAC CCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAA GGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGG ATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACG AGAAGGTGCTGCCCAAGCACTCCCTGCTGTA CGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACC AAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGG AAGCCCGCCTTCCTGTCCGGCGAGCAGAAGA AGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAA CCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGA GGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGAC TCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGT TCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCT GCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTG GACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAG GACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGG ACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGA CCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGAT GAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGG CTGGGGCCGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAAC GGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACC ATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCG CCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGA CGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAG AAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCC CTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCT CCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGAC CGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGT GATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTG ATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCC AGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGA

[1190]

SEQ ID NO	说明	序列
		TGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGC TGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGT GGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCT GTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGAC ATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACC GGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATCGT GCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATC GACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAG AACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCCTCC GAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTAC TGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCA CCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACCAAGG CCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACA AGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGA GACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCCCA GATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTAC GACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTG AAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAGCTGGTGT CCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAA GGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCC CACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCA CCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGA GTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTG TACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGTCCG AGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGT ACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTC AAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAG ATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACG GCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGG GCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTGCT GTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAG ACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAG GAGTCCATCCTGCCCAAGCGGAACTCCGACA AGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACC CCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCAC CGTGGCCTACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAG GTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAG TCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCA TGGAGCGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCAT CGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGA GGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCC AAGTACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCC GGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCT GCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTC CAAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCC CACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAG GACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCG

[1191]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGAT CCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCA TCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCT GTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCC GCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACC GGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCT GGACGCCACCCTGATCCACCAGTCCATCACC GGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCC AGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCTCCCCCA AGAAGAAGCGGAAGGTG
54	使用表 4 的低 A 密码子的 Cas9 切口酶 ORF (无 NLS 并且无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCG GCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCAC CGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAGTTC AAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCC ATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGT TCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCC GGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACA CCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCA GGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCCAAGGTG GACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGT CCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACG AGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGA CGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACC ATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACT CCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCTA CCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGG GGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACC CCGACAACTCCGACGTGGACAAGCTGTTCAT CCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTC GAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGG ACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGGCTGTC CAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCC CAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTG TTCGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGGCC TGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCT GGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAA GGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCTG CTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACC TGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGC CATCCTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAAC ACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCT CCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCA GGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGG CAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCT TCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGG CTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAG TTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGA

[1192]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGA
		AGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGC
		AGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCA
		CCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATC
		CTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCC
		TGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGA
		TCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTACGTGGGC
		CCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCT
		GGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCAC
		CCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAA
		GGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGG
		ATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACG
		AGAAGGTGCTGCCCAAGCACTCCCTGCTGTA
		CGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACC
		AAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGG
		AAGCCCGCCTTCCTGTCCGGCGAGCAGAAGA
		AGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAA
		CCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGA
		GGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGAC
		TCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGT
		TCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCT
		GCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTG
		GACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAG
		GACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGG
		ACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGA
		CCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGAT
		GAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGG
		CTGGGGCCGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAAC
		GGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACC
		ATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCG
		CCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGA
		CGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAG
		AAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCC
		CTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCT
		CCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGAC
		CGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGT
		GATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTG
		ATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCC
		AGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGA
		TGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGC
		TGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGT
		GGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCT
		GTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGAC
		ATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACC
		GGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATCGT
		GCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATC
		GACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAG
		AACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCCTCC

[1193]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTAC TGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCA CCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACCAAGG CCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACA AGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGA GACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCCCA GATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTAC GACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTG AAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAGCTGGTGT CCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAA GGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCC CACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCA CCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGA GTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTG TACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGTCCG AGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGT ACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTC AAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAG ATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACG GCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGG GCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTGCT GTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAG ACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAG GAGTCCATCCTGCCCAAGCGGAACTCCGACA AGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACC CCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCAC CGTGGCCTACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAG GTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAG TCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCA TGGAGCGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCAT CGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGA GGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCC AAGTACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCC GGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCT GCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTC CAAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCC CACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAG GACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCG AGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGAT CCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCA TCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCT GTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCC GCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACC GGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCT GGACGCCACCCTGATCCACCAGTCCATCACC GGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCC

[1194]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGCTGGGCGGCGAC
55	使用表 4 的低 A 密码子的 Cas9 切口酶 ORF，具有两个 C 末端 NLS 序列 (无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCG GCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCAC CGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAGTTC AAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCC ATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGT TCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCC GGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACA CCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCA GGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCCAAGGTG GACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGT CCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACG AGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGA CGAGGTGGCCTAC CACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGC GGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGG CCGACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGC CCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTG ATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCG ACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCA GACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCC ATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCA TCCTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCG GCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGC GAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACT TCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGC CAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTACGAC GACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCG GCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGC CAAGAACCTGTCCGACGCCATCCTGCTGTCC GACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCA AGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCG GTACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTG CTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCG AGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTC CAAGAACGGCTACGCCGGCTACATCGACGGC GGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCA TCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCAC CGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACCGGGA GGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGA CAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTG GGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCAGG AGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCG GGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGG ATCCCCTACTACGTGGGCCCCCTGGCCCGGG GCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAA GTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTC

[1195]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCC CAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCG ACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGC CCAAGCACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCAC CGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTAC GTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCC TGTCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGG ACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGAC CGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAA GAAGATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATC TCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCC TGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCAT CAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGA GAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTG ACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGA TCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCT GTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAA GCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCT GTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGAC AAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCC TGAAGTCCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTT CATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACC TTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGT CCGGCCAGGGCGACTCCCTGCACGAGCACAT CGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAG AAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTG GACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCAC AAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCC GGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGA AGAACTCCCGGGAGCGGATGAAGCGGATCG AGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGAT CCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCA GCTGCAGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTAC CTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACC AGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTA CGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGTCCTTC CTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGC TGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGT CCGACAACGTGCCCTCCGAGGAGGTGGTGA AGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCT GAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTC GACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGC CTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCA AGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCA CCAAGCACGTGGCCCAGATCCTGGACTCCCG GATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAA GCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTG AAGTCCAAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGG

[1196]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAA CAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTG AACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGA AGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTA CGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAA GATGATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGC AAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCA ACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCAC CCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCC CCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGA GATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGG TGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGA CCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTGCC CAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGG AAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGC GGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTACTCCG TGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCA AGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGC TGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGGTCCTC CTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAG GCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGAC CTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACTCCCTGTT CGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCT GGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAA CGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAGTACGTGAAC TTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGC TGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGA AGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCACTA CCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAG TTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCA ACCTGGACAAGGTGCTGTCCGCCTACAACAA GCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGC CGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACC AACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACT TCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACAC CTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTG ATCCACCAGTCCATCACCGGCCTGTACGAGA CCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGA CGGCTCCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAA GGTGGACGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAA GGTGGACTCCGGC
56	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Cas9 切口酶 ORF (无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCATCG GCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCAC CGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAGTT CAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAG CATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTG TTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACC

[1197]

SEQ ID NO	说明	序列
	编码序列中)	CGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTAC ACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGC AGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCCAAGGT GGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAG AGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCAC GAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGG ACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCAC CATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGAC AGCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCT ACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCG GGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAAC CCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTC ATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGT TCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGT GGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCCCGGCTG AGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATC GCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGC CTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGG GCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGA CCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAG CAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAA CCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCC GACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCG ACGCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGCGGGT GAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGC GCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACC ACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGT GCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGA GATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTAC GCCGGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGG AGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCT GGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCT GGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCG GAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCAT CCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACC CCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCG AGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGG TTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAG ACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGG TGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCAT CGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTG CCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCACAGC CTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACG AGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGG GCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGA GCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTC

[1198]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAG CTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGT GCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGA GGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTAC CACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGG ACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACA TCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCT GTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGGAGCG GCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGAC AAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGG TACACCGGCTGGGGCCGGCTGAGCCGGAAG CTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCG GCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGA CGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTG ATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGG ACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGG GCGACAGCCTGCACGAGCACATCGCCAACCT GGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATC CTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTG GTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGCCCGAG AACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACC AGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCC GGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAGGGCA TCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGG AGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGA ACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAA CGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTG GACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGG ACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGA CGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCG GAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAA CGTGCCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGAT GAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCC AAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACC TGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCG AGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCA GCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCA CGTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAAC ACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCC GGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCA AGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCA GTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTAC CACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCG TGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCC CAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGAC TACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATCG CCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCA CCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATG

[1199]

SEQ ID NO	说明	序列
		AACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCA ACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGA GACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTG GGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCG GAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATC GTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGC TTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGCGGA ACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGG ACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGA CAGCCCCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGTG GTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAG AAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGC ATCACCATCATGGAGCGGAGCAGCTTCGAGA AGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGG CTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATC AAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGG AGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCG CCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGG CCCTGCCCAGCAAGTACGTGAACTTCCTGTA CCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGG CAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCT GTTCGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGAC GAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCA AGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGA CAAGGTGCTGAGCGCCTACAACAAGCACCG GGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAA CATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGG GCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACAC CACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACC AAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACC AGAGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGAT CGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGG CGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTG
57	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Cas9 切口酶 ORF，具有两个 C 末端 NLS 序列(无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCATCG GCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCAC CGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAGTT CAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAG CATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTG TTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACC CGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTAC ACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGC AGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCCAAGGT GGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAG AGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCAC GAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGG ACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCAC CATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGAC AGCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCT

[1200]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCG GGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAAC CCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTC ATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGT TCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGT GGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCCCGGCTG AGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATC GCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGC CTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGG GCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGA CCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAG CAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAA CCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCC GACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCG ACGCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGCGGGT GAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGC GCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACC ACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGT GCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGA GATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTAC GCCGGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGG AGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCT GGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCT GGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCG GAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCAT CCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACC CCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCG AGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGG TTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAG ACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGG TGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCAT CGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTG CCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCACAGC CTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACG AGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGG GCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGA GCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTC AAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAG CTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGT GCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGA GGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTAC CACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGG ACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACA TCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCT GTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGGAGCG GCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGAC

[1201]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGG TACACCGGCTGGGGCCGGCTGAGCCGGAAG CTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCG GCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGA CGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTG ATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGG ACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGG GCGACAGCCTGCACGAGCACATCGCCAACCT GGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATC CTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTG GTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGCCCGAG AACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACC AGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCC GGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAGGGCA TCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGG AGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGA ACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAA CGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTG GACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGG ACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGA CGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCG GAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAA CGTGCCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGAT GAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCC AAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACC TGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCG AGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCA GCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCA CGTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAAC ACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCC GGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCA AGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCA GTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTAC CACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCG TGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCC CAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGAC TACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATCG CCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCA CCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATG AACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCA ACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGA GACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTG GGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCG GAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATC GTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGC TTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGCGGA ACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGG ACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGA

[1202]

SEQ ID NO	说明	序列
		CAGCCCCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGTG GTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAG AAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGC ATCACCATCATGGAGCGGAGCAGCTTCGAGA AGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGG CTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATC AAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGG AGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCG CCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGG CCCTGCCCAGCAAGTACGTGAACTTCCTGTA CCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGG CAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCT GTTCGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGAC GAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCA AGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGA CAAGGTGCTGAGCGCCTACAACAAGCACCG GGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAA CATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGG GCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACAC CACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACC AAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACC AGAGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGAT CGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCAG CGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGA CGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGA CAGCGGC
58	使用表 4 的低 A/U 密码子的 Cas9 切口酶 ORF (无 NLS 并且无起始或终止密码子；适于包括在融合蛋白编码序列中)	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCATCG GCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCAC CGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAGTT CAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAG CATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTG TTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACC CGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTAC ACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGC AGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCCAAGGT GGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAG AGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCAC GAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGG ACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCAC CATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGAC AGCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCT ACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCG GGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAAC CCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTC ATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGT TCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGT GGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCCCGGCTG AGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATC

[1203]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGC CTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGG GCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGA CCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAG CAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAA CCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCC GACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCG ACGCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGCGGGT GAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGC GCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACC ACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGT GCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGA GATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTAC GCCGGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGG AGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCT GGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCT GGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCG GAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCAT CCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACC CCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCG AGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGG TTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAG ACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGG TGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCAT CGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTG CCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCACAGC CTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACG AGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGG GCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGA GCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTC AAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAG CTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGT GCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGA GGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTAC CACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGG ACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACA TCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCT GTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGGAGCG GCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGAC AAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGG TACACCGGCTGGGGCCGGCTGAGCCGGAAG CTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCG GCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGA CGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTG ATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGG ACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGG

[1204]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCGACAGCCTGCACGAGCACATCGCCAACCT GGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATC CTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTG GTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGCCCGAG AACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACC AGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCC GGGAGCGGATGAAGCGGATCGAGGAGGGCA TCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGG AGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGA ACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAA CGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTG GACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGG ACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGA CGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCG GAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAA CGTGCCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGAT GAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCC AAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACC TGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCG AGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCA GCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCA CGTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAAC ACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCC GGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCA AGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCA GTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTAC CACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCG TGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCC CAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGAC TACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATCG CCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCA CCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATG AACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCA ACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGA GACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTG GGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCG GAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATC GTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGC TTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGCGGA ACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGG ACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGA CAGCCCCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGTG GTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAG AAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGC ATCACCATCATGGAGCGGAGCAGCTTCGAGA AGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGG CTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATC AAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGG

[1205]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCG CCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGG CCCTGCCCAGCAAGTACGTGAACTTCCTGTA CCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGG CAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCT GTTCGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGAC GAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCA AGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGA CAAGGTGCTGAGCGCCTACAACAAGCACCG GGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAA CATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGG GCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACAC CACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACC AAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACC AGAGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGAT CGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGAC
59	示例性 NLS 1	LAAKRSRTT
60	示例性 NLS 2	QAAKRSRTT
61	示例性 NLS 3	PAPAKRERTT
62	示例性 NLS 4	QAAKRPRTT
63	示例性 NLS 5	RAAKRPRTT
64	示例性 NLS 6	AAAKRSWSMAA
65	示例性 NLS 7	AAAKRVWSMAF
66	示例性 NLS 8	AAAKRSWSMAF
67	示例性 NLS 9	AAAKRKYFAA
68	示例性 NLS 10	RAAKRKAFAA
69	示例性 NLS 11	RAAKRKYFAV
70	交替性 SV40 NLS	PKKKRRV
71	核质蛋白 NLS	KRPAATKKAGQAKKKK
72	示例性接头的氨基酸序列	GGS
73	示例性接头的氨基酸序列	GGGGS
74	示例性接头的氨基酸序列	EAAAK
75	示例性接头的氨基酸序列	SEGSA
76	示例性接头的氨基酸序列	SEGSAGTST
77	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGS
78	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAK

[1206]

SEQ ID NO	说明	序列
79	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGS
80	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAK
81	示例性接头的氨基酸序列	SEGSAGTSTESEGSA
82	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSGGGGS
83	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSEAAAK
84	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKGGGGS
85	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSEAAAK
86	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKGGGGS
87	示例性接头的氨基酸序列	SEGSAGTSTESEGSAGTSTE
88	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSGGGGSEAAAK
89	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSEAAAKGGGGS
90	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKGGGGSEAAAK
91	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKEAAAKGGGGS
92	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKEAAAKEAAAK
93	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSGGGGSGGGGS
94	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSGGGGSEAAAK
95	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSEAAAKGGGGS
96	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSEAAAKEAAAK
97	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKGGGGSGGGGS
98	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKGGGGSEAAAK
99	示例性接头的氨基	EAAAKEAAAKEAAAKGGGGS

[1207]

SEQ ID NO	说明	序列
	酸序列	
100	示例性接头的氨基酸序列	SEGSAGTSTESEGSAGTSTESEGSA
101	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
102	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEAAAK
103	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSGGGGSEAAAKGGGGS
104	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSGGGGSEAAAKEAAAK
105	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSEAAAKGGGGSGGGGS
106	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSEAAAKGGGGSEAAAK
107	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSEAAAKEAAAKGGGGS
108	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSGGGGSEAAAKEAAAKEAAAK
109	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKGGGGSGGGGSGGGGS
110	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKGGGGSGGGGSEAAAK
111	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKGGGGSEAAAKGGGGS
112	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKGGGGSEAAAKEAAAK
113	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKEAAAKGGGGSGGGGS
114	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKEAAAKEAAAKGGGGS
115	示例性接头的氨基酸序列	GGGGSEAAAKEAAAKEAAAKEAAAK
116	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
117	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSGGGGSGGGGSEAAAK
118	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSGGGGSEAAAKGGGGS
119	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSGGGGSEAAAKEAAAK

[1208]

SEQ ID NO	说明	序列
120	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSEAAAKGGGGSGGGGS
121	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSEAAAKGGGGSEAAAK
122	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSEAAAKEAAAKGGGGS
123	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKGGGGSEAAAKEAAAKEAAAK
124	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKGGGGSEAAAKGGGGS
125	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKGGGGSEAAAKEAAAK
126	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKEAAAKGGGGSEAAAK
127	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKEAAAKEAAAKGGGGS
128	示例性接头的氨基酸序列	EAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAK
129	示例性接头的氨基酸序列	GTKDSTKDIPETPSKD
130	示例性接头的氨基酸序列	GRDVRQPEVKEEKPES
131	示例性接头的氨基酸序列	EGKSSGSGSESKSTAG
132	示例性接头的氨基酸序列	TPGSPAGSPTSTEEGT
133	示例性接头的氨基酸序列	GSEPATSGSETPGTST
134	编码 APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性 mRNA	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGAGGCCUCCCCCG CCUCCGGCCCCCGGCACCUGAUGGACCCCC ACAUCUUCACCUCCAACUUCAACAACGGCA UCGGCCGGCACAAGACCUACCUGUGCUACG AGGUGGAGCGGCUGGACAACGGCACCUCCG UGAAGAUGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGC ACAACCAGGCCAAGAACCUGCUGUGCGGCU UCUACGGCCGGCACGCCGAGCUGCGGUUCC UGGACCUGGUGCCCUCCCUGCAGCUGGACC CCGCCCAGAUCUACCGGGUGACCUGGUUCA UCUCCUGGUCCCCCUGCUUCUCCUGGGGCU GCGCCGGCGAGGUGCGGGCCUUCCUGCAGG AGAACACCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCG CCGCCCGGAUCUACGACUACGACCCCCUGU

[1209]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACAAGGAGGCCCUGCAGAUGCUGCGGGACG
		CCGGCGCCCAGGUGUCCAUCAUGACCUACG
		ACGAGUUCAAGCACUGCUGGGACACCUUCG
		UGGACCACCAGGGCUGCCCCUUCCAGCCCU
		GGGACGGCCUGGACGAGCACUCCCAGGCCC
		UGUCCGGCCGGCUGCGGGCCAUCCUGCAGA
		ACCAGGGCAACUCCGGCUCCGAGACCCCCG
		GCACCUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCG
		CAGCGUUCAAACCAAAUCCCAUCAACUACA
		UCCUGGGCCUGGCCAUCGGCAUCGCCUCCG
		UGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAG
		GAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUG
		GGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUG
		CCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCC
		CGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUG
		ACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGG
		GCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUG
		CUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGC
		CUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGG
		CAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAG
		CUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUG
		CUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUG
		UCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCC
		GACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGC
		GUGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACC
		GGCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCC
		CUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCAC
		AUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCAC
		ACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAG
		CUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAG
		UUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUG
		AAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACC
		CAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUG
		CAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAG
		CCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACC
		UACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACC
		AAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAG
		GGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAG
		CGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGG
		AAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGG
		AAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUC
		UUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAAC
		GCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAG
		GCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAG
		AAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCC
		CUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAG
		AUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACC
		GACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGAC

[1210]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUG
		CUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUG
		CAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUC
		GUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUAC
		GACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGAC
		CACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAG
		AUCUACCUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAG
		AUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUG
		UCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUG
		GUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUC
		CACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAG
		UCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAG
		CGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAG
		AAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUC
		CCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAG
		GACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAG
		CAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAG
		GAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAG
		GGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCC
		UUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAAC
		AACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAAC
		CAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAG
		UACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAG
		UGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACC
		UCCCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGG
		AUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGC
		UUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGG
		UACGUGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUG
		GCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGC
		AAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAG
		AUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGC
		CUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGG
		CACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCC
		UGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUC
		ACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAAC
		GCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAG
		ACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCAC
		UUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAG
		GAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCC
		GACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGAC
		ACCCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCC
		GAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUG
		CACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCC
		CGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCC
		CACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGG
		UUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUG
		AAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUG
		GCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAG

[1211]

SEQ ID NO	说明	序列
		AACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCC CUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGC AACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGAC AACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUG GUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAG GAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAAC GCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUG GUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGA CAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGU GCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAA CAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUA CCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUU CUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUU CCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGU UCGCCUACUACAUCAACUGCGACUCCUCCA ACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACA AGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCU CCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGU ACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCC GGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCG UGCGGUCCGGAAAGCGGACCGCCGACGGCU CCGAGUUCGAGUCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGUGGAGUAGUGACUAGCACCAGCCUCAA GAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAU AAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGU CCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUC CUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCU
135	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性开放阅读框	AUGGAGGCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGG CACCUGAUGGACCCCCACAUCUUCACCUCC AACUUCAACAACGGCAUCGGCCGGCACAAG ACCUACCUGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUG GACAACGGCACCUCCGUGAAGAUGGACCAG CACCGGGGCUUCCUGCACAACCAGGCCAAG AACCUGCUGUGCGGCUUCUACGGCCGGCAC GCCGAGCUGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCC UCCCUGCAGCUGGACCCCGCCCAGAUCUAC CGGGUGACCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCC UGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUG CGGGCCUUCCUGCAGGAGAACACCCACGUG CGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUAC GACUACGACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUG CAGAUGCUGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUG UCCAUCAUGACCUACGACGAGUUCAAGCAC UGCUGGGACACCUUCGUGGACCACCAGGGC UGCCCCUUCCAGCCCUGGGACGGCCUGGAC GAGCACUCCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUG CGGGCCAUCCUGCAGAACCAGGGCAACUCC GGCUCCGAGACCCCCGGCACCUCCGAGUCC

[1212]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCCACCCCCGAGUCCGCAGCGUUCAAACCA
		AAUCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGCC
		AUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUG
		GUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUC
		CGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUC
		GAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGAC
		UCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGG
		UCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCC
		CACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUG
		AAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGAC
		UUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUG
		CCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCC
		GCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAG
		UGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAG
		CACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAAC
		GAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGC
		GCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCC
		CACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACC
		CCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAG
		AAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGG
		GGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAG
		GACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUC
		GAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCAC
		GUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAG
		ACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUG
		UCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGC
		CACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAG
		GCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGG
		UUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUG
		CGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCC
		CUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUG
		GACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACC
		UACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUG
		GAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGG
		UACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACC
		CUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUC
		UCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAG
		GACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCC
		GAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUC
		UCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACC
		GGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAG
		AUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCC
		UUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAG
		GCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAG
		CAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCC
		GAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAG
		AACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCC
		AUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUG

[1213]

SEQ ID NO	说明	序列
		GUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAG
		GUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGC
		UCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCC
		CGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGG
		AAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAA
		CCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAA
		GUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGG
		CGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCU
		GCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUG
		CCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGU
		GCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGA
		UCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCU
		GGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGG
		UGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCA
		ACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCA
		AGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCA
		AGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCC
		GGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGA
		AGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCA
		ACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGCU
		UCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCC
		UGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGU
		UCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGC
		UGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGC
		GGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGG
		ACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGG
		CCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGC
		GGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCA
		AGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGC
		UGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCU
		GGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCC
		GGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCG
		AGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGC
		UGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCU
		CCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGA
		CCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACC
		GGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCC
		UGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACA
		ACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGC
		UGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGA
		ACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGA
		UCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGC
		UGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGG
		CCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACA
		AGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGC
		GGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGC
		UGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCG
		CCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACG

[1214]

SEQ ID NO	说明	序列
		UGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAG AACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCC UGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGAC AUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGAC UCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAG UACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAG AAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUC AACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUAC CUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAG CAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAACCUG GUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAG CUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUG AAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGGAAAG CGGACCGCCGACGGCUCCGAGUUCGAGUCC CCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGUAG
136	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性氨基酸序列	MEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYL CYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLC GFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTWFIS WSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARI YDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKH CWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLR AILQNQGNSGSETPGTSESATPESAAFKPNPINY ILGLAIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRV FERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAH RLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNT PWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYL SQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTG DFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSR KDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETL LMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAK NTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTER ATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKG LRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGL KDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRL KDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVP LMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLP PIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSP ARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDRE KAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQH GKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTW DDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKD NSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDED GFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGK RRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHH ALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFD GKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIR VFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPE AVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKR

[1215]

SEQ ID NO	说明	序列
		FVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKN GREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPF YKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIA DNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQ VAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAF QKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGS KEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLK KRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE*
137	编码 APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性 mRNA	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCG GCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGG AGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGG CCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCU CCGGCGGCGGCGAGGCCUCCCCCGCCUCCG GCCCCCGGCACCUGAUGGACCCCCACAUCU UCACCUCCAACUUCAACAACGGCAUCGGCC GGCACAAGACCUACCUGUGCUACGAGGUGG AGCGGCUGGACAACGGCACCUCCGUGAAGA UGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGCACAACC AGGCCAAGAACCUGCUGUGCGGCUUCUACG GCCGGCACGCCGAGCUGCGGUUCCUGGACC UGGUGCCCUCCCUGCAGCUGGACCCCGCCC AGAUCUACCGGGUGACCUGGUUCAUCUCCU GGUCCCCCUGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCG GCGAGGUGCGGGCCUUCCUGCAGGAGAACA CCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCC GGAUCUACGACUACGACCCCCUGUACAAGG AGGCCCUGCAGAUGCUGCGGGACGCCGGCG CCCAGGUGUCCAUCAUGACCUACGACGAGU UCAAGCACUGCUGGGACACCUUCGUGGACC ACCAGGGCUGCCCCUUCCAGCCCUGGGACG GCCUGGACGAGCACUCCCAGGCCCUGUCCG GCCGGCUGCGGGCCAUCCUGCAGAACCAGG GCAACUCCGGCUCCGAGACCCCCGGCACCU CCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGCAGCGU UCAAACCAAAUCCCAUCAACUACAUCCUGG GCCUGGCCAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCU GGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAG AACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUG CGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAG ACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGG CUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGG CGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGG CGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAG GCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUC AAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUG CGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACC CCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCAC

[1216]

SEQ ID NO	说明	序列
		CUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAG
		CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG
		GAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCC
		AACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGAC
		UUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAAC
		AAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGG
		AACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUC
		UCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUC
		CUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGC
		AACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAG
		GGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGG
		CCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAG
		AUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCC
		GAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACC
		GCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUG
		AACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCC
		GAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCC
		ACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCC
		AAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUG
		CUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAG
		GGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAG
		GCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUAC
		CACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAG
		GGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAAC
		CUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGC
		ACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAG
		GACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUG
		CAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAG
		CACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUC
		UCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCC
		CUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAG
		GCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUAC
		GGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUAC
		CUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGG
		AACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAG
		GCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGG
		CGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUC
		GAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUC
		AAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCA
		GGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGG
		CCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCA
		ACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACA
		UCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGC
		ACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGA
		UCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCU
		ACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCU
		CCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACA
		AGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGA

[1217]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACU UCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGC AGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCC GGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCC UGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCA AGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACG UGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCG ACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGC GGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCA CCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGC GGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACC ACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCU CCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCC GGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCU UCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCG GCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCC CCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGG UGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACG GCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCC CCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGA AGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACG AGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGG CCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACA AGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCG UGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGC GGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCG ACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACG GCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGA AGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACG CCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACC CCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGA AGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGU CCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCU ACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGC GGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAG AAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCC AUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUC CUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGG AUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCC CUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAG AAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCC UACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGC CGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGC UCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACC CAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAG GUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCC UGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGG UCCGGAAAGCGGACCGCCGACGGCUCCGAG

[1218]

SEQ ID NO	说明	序列
		UUCGAGUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUG GAGUAGUGACUAGCACCAGCCUCAAGAACA CCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUAC CAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCC AAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAU AAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCU
138	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性开放阅读框	AUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCC GCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAG AAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGAG GCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGGCACCUGA UGGACCCCCACAUCUUCACCUCCAACUUCA ACAACGGCAUCGGCCGGCACAAGACCUACC UGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUGGACAACG GCACCUCCGUGAAGAUGGACCAGCACCGGG GCUUCCUGCACAACCAGGCCAAGAACCUGC UGUGCGGCUUCUACGGCCGGCACGCCGAGC UGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCCUCCCUGC AGCUGGACCCCGCCCAGAUCUACCGGGUGA CCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCCUGCUUCU CCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUGCGGGCCU UCCUGCAGGAGAACACCCACGUGCGGCUGC GGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUACGACUACG ACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUGCAGAUGC UGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUGUCCAUCA UGACCUACGACGAGUUCAAGCACUGCUGGG ACACCUUCGUGGACCACCAGGGCUGCCCCU UCCAGCCCUGGGACGGCCUGGACGAGCACU CCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUGCGGGCCA UCCUGCAGAACCAGGGCAACUCCGGCUCCG AGACCCCCGGCACCUCCGAGUCCGCCACCC CCGAGUCCGCAGCGUUCAAACCAAAUCCCA UCAACUACAUCCUGGGCCUGGCCAUCGGCA UCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGA UCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGA UCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGG CCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGG CCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGC GGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGC UGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGG AGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACG AGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACA CCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGG ACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCG CCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGG GCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCG AGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGC UGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCC

[1219]

SEQ ID NO	说明	序列
		UGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCG
		AGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGU
		CCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACU
		ACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGC
		AGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGC
		AGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCG
		GCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGC
		UGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCG
		ACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCA
		CCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCA
		AGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCU
		GGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCC
		UGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCG
		ACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGC
		CCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCC
		AGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACA
		CCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCA
		AGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGG
		AGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGG
		CCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGA
		AGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGC
		AGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGU
		UCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGC
		UGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGG
		AGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACA
		AGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGC
		GGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCA
		AGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCU
		ACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCG
		AGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCG
		CCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGC
		GGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCA
		ACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCG
		CCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGG
		UGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGA
		UCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAG
		GACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGG
		GAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCC
		AAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUG
		UACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUAC
		UCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUG
		AACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCAC
		GCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGAC
		UCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGC
		UCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACC
		CCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAAC
		UCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGG
		GUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAG

[1220]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGAC GAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAAC GACACCCGGUACGUGAACCGCUUCCUGUGC CAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACC GGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCC AACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGC UUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAG AACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUG GUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAG CAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAG GAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUC GACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAG AAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUC UUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUC GGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAG GAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACC CUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCC GAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUG UUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUG UCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCC GCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAG AUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAG AUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUG AACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUG UACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCC UACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGAC CCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGC GGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAG AAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAAC AAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAAC GGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGC AAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUA CUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGU GGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUG CAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACAC CUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCU GAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAA GGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGA CUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUG GCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUU CCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAU CCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAA GGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCG GCCCCCCGUGCGGUCCGGAAAGCGGACCGC CGACGGCUCCGAGUUCGAGUCCCCCAAGAA GAAGCGGAAGGUGGAGUAG
139	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKK KKGGSGGGEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGI

[1221]

SEQ ID NO	说明	序列
	性氨基酸序列	GRHKTYLCYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHN QAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIY RVTWFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRL RIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMT YDEFKHCWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQA LSGRLRAILQNQGNSGSETPGTSESATPESAAF KPNPINYILGLAIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLI DLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRL TRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLI KSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLI KHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNA HALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGD YSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGL KEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPA EPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERP LTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLED TAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRAL EKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDE DITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKA LRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTE EKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVR RYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEEN RKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRL YEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHAL PFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEY FNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILL QKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHIL LTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAE NDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKE MNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQ EVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKL SSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTL RSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMV NYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPK DNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKN AYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPI YAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKY DLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAW HDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIR PCRLKKRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE*
140	编码 APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性 mRNA	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCG GCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGG AGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGG CCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCU CCGGCGGCGGCGAGGCCUCCCCCGCCUCCG GCCCCCGGCACCUGAUGGACCCCCACAUCU UCACCUCCAACUUCAACAACGGCAUCGGCC

[1222]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGCACAAGACCUACCUGUGCUACGAGGUGG AGCGGCUGGACAACGGCACCUCCGUGAAGA UGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGCACAACC AGGCCAAGAACCUGCUGUGCGGCUUCUACG GCCGGCACGCCGAGCUGCGGUUCCUGGACC UGGUGCCCUCCCUGCAGCUGGACCCCGCCC AGAUCUACCGGGUGACCUGGUUCAUCUCCU GGUCCCCCUGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCG GCGAGGUGCGGGCCUUCCUGCAGGAGAACA CCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCC GGAUCUACGACUACGACCCCCUGUACAAGG AGGCCCUGCAGAUGCUGCGGGACGCCGGCG CCCAGGUGUCCAUCAUGACCUACGACGAGU UCAAGCACUGCUGGGACACCUUCGUGGACC ACCAGGGCUGCCCCUUCCAGCCCUGGGACG GCCUGGACGAGCACUCCCAGGCCCUGUCCG GCCGGCUGCGGGCCAUCCUGCAGAACCAGG GCAACUCCGGCUCCGAGACCCCCGGCACCU CCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGCAGCGU UCAAACCAAAUCCCAUCAACUACAUCCUGG GCCUGGCCAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCU GGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAG AACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUG CGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAG ACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGG CUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGG CGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGG CGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAG GCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUC AAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUG CGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACC CCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCAC CUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAG CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG GAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCC AACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGAC UUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAAC AAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGG AACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUC UCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUC CUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGC AACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAG GGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGG CCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAG AUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCC GAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACC GCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUG AACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCC

[1223]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCC ACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCC AAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUG CUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAG GGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAG GCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUAC CACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAG GGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAAC CUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGC ACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAG GACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUG CAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAG CACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUC UCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCC CUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAG GCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUAC GGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUAC CUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGG AACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAG GCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGG CGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUC GAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUC AAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCA GGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGG CCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCA ACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACA UCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGC ACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGA UCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCU ACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCU CCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACA AGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGA ACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACU UCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGC AGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCC GGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCC UGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCA AGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACG UGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCG ACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGC GGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCA CCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGC GGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACC ACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCU CCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCC GGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCU UCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCG GCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCC

[1224]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGG UGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACG GCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCC CCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGA AGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACG AGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGG CCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACA AGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCG UGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGC GGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCG ACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACG GCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGA AGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACG CCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACC CCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGA AGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGU CCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCU ACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGC GGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAG AAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCC AUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUC CUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGG AUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCC CUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAG AAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCC UACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGC CGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGC UCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACC CAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAG GUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCC UGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGG GAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAG GCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGUACCCC UACGACGUGCCCGACUACGCCGGCUACCCC UACGACGUGCCCGACUACGCCGGCUCCUAC CCCUACGACGUGCCCGACUACGCCGCCGCC CCCGCCGCCAAGAAGAAGAAGCUGGACUAG CUAGUGACUAGCACCAGCCUCAAGAACACC CGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCA ACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAA AAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAA AAAGAAAGUUUCUUCACAUUCU
141	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性开放阅读框	AUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCC GCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAG AAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGAG GCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGGCACCUGA UGGACCCCCACAUCUUCACCUCCAACUUCA

[1225]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACAACGGCAUCGGCCGGCACAAGACCUACC
		UGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUGGACAACG
		GCACCUCCGUGAAGAUGGACCAGCACCGGG
		GCUUCCUGCACAACCAGGCCAAGAACCUGC
		UGUGCGGCUUCUACGGCCGGCACGCCGAGC
		UGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCCUCCCUGC
		AGCUGGACCCCGCCCAGAUCUACCGGGUGA
		CCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCCUGCUUCU
		CCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUGCGGGCCU
		UCCUGCAGGAGAACACCCACGUGCGGCUGC
		GGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUACGACUACG
		ACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUGCAGAUGC
		UGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUGUCCAUCA
		UGACCUACGACGAGUUCAAGCACUGCUGGG
		ACACCUUCGUGGACCACCAGGGCUGCCCCU
		UCCAGCCCUGGGACGGCCUGGACGAGCACU
		CCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUGCGGGCCA
		UCCUGCAGAACCAGGGCAACUCCGGCUCCG
		AGACCCCCGGCACCUCCGAGUCCGCCACCC
		CCGAGUCCGCAGCGUUCAAACCAAAUCCCA
		UCAACUACAUCCUGGGCCUGGCCAUCGGCA
		UCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGA
		UCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGA
		UCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGG
		CCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGG
		CCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGC
		GGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGC
		UGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGG
		AGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACG
		AGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACA
		CCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGG
		ACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCG
		CCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGG
		GCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCG
		AGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGC
		UGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCC
		UGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCG
		AGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGU
		CCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACU
		ACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGC
		AGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGC
		AGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCG
		GCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGC
		UGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCG
		ACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCA
		CCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCA
		AGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCU
		GGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCC

[1226]

SEQ ID NO	说明	序列
		UGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCG
		ACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGC
		CCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCC
		AGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACA
		CCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCA
		AGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGG
		AGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGG
		CCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGA
		AGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGC
		AGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGU
		UCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGC
		UGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGG
		AGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACA
		AGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGC
		GGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCA
		AGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCU
		ACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCG
		AGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCG
		CCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGC
		GGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCA
		ACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCG
		CCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGG
		UGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGA
		UCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAG
		GACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGG
		GAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCC
		AAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUG
		UACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUAC
		UCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUG
		AACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCAC
		GCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGAC
		UCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGC
		UCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACC
		CCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAAC
		UCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGG
		GUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAG
		AAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGAC
		GAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAAC
		GACACCCGGUACGUGAACCGCUUCCUGUGC
		CAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACC
		GGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCC
		AACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGC
		UUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAG
		AACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUG
		GUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAG
		CAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAG
		GAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUC
		GACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAG

[1227]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUC UUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUC GGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAG GAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACC CUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCC GAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUG UUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUG UCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCC GCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAG AUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAG AUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUG AACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUG UACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCC UACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGAC CCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGC GGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAG AAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAAC AAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAAC GGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGC AAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUA CUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGU GGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUG CAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACAC CUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCU GAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAA GGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGA CUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUG GCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUU CCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAU CCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAA GGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCG GCCCCCCGUGCGGGAGGACAAGCGGCCCGC CGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAA GAAGAAGUACCCCUACGACGUGCCCGACUA CGCCGGCUACCCCUACGACGUGCCCGACUA CGCCGGCUCCUACCCCUACGACGUGCCCGA CUACGCCGCCGCCCCCGCCGCCAAGAAGAA GAAGCUGGACU
142	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性氨基酸序列	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKK KKGGSGGGEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGI GRHKTYLCYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHN QAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIY RVTWFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRL RIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMT YDEFKHCWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQA LSGRLRAILQNQGNSGSETPGTSESATPESAAF KPNPINYILGLAIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLI DLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRL

[1228]

SEQ ID NO	说明	序列
		TRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLI KSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLI KHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNA HALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGD YSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGL KEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPA EPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERP LTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLED TAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRAL EKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDE DITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKA LRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTE EKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVR RYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEEN RKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRL YEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHAL PFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEY FNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILL QKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHIL LTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAE NDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKE MNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQ EVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKL SSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTL RSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMV NYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPK DNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKN AYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPI YAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKY DLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAW HDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIR PCRLKKRPPVREDKRPAATKKAGQAKKKKYP YDVPDYAGYPYDVPDYAGSYPYDVPDYAAAP AAKKKKLD
143	编码 APOBEC3A-NME2D16A 的示例性 MRNA	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCG GCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGG AGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGG CCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCU CCGGCGGCGGCGAGGCCUCCCCCGCCUCCG GCCCCCGGCACCUGAUGGACCCCCACAUCU UCACCUCCAACUUCAACAACGGCAUCGGCC GGCACAAGACCUACCUGUGCUACGAGGUGG AGCGGCUGGACAACGGCACCUCCGUGAAGA UGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGCACAACC AGGCCAAGAACCUGCUGUGCGGCUUCUACG GCCGGCACGCCGAGCUGCGGUUCCUGGACC UGGUGCCCUCCCUGCAGCUGGACCCCGCCC

[1229]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGAUCUACCGGGUGACCUGGUUCAUCUCCU GGUCCCCCUGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCG GCGAGGUGCGGGCCUUCCUGCAGGAGAACA CCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCC GGAUCUACGACUACGACCCCCUGUACAAGG AGGCCCUGCAGAUGCUGCGGGACGCCGGCG CCCAGGUGUCCAUCAUGACCUACGACGAGU UCAAGCACUGCUGGGACACCUUCGUGGACC ACCAGGGCUGCCCCUUCCAGCCCUGGGACG GCCUGGACGAGCACUCCCAGGCCCUGUCCG GCCGGCUGCGGGCCAUCCUGCAGAACCAGG GCAACUCCGGCUCCGAGACCCCCGGCACCU CCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGCAGCGU UCAAACCAAAUCCCAUCAACUACAUCCUGG GCCUGGCCAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCU GGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAG AACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUG CGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAG ACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGG CUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGG CGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGG CGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAG GCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUC AAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUG CGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACC CCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCAC CUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAG CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG GAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCC AACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGAC UUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAAC AAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGG AACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUC UCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUC CUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGC AACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAG GGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGG CCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAG AUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCC GAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACC GCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUG AACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCC GAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCC ACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCC AAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUG CUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAG GGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAG GCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUAC

[1230]

SEQ ID NO	说明	序列
		CACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAG GGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAAC CUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGC ACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAG GACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUG CAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAG CACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUC UCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCC CUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAG GCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUAC GGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUAC CUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGG AACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAG GCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGG CGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUC GAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUC AAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCA GGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGG CCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCA ACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACA UCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGC ACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGA UCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCU ACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCU CCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACA AGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGA ACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACU UCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGC AGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCC GGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCC UGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCA AGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACG UGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCG ACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGC GGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCA CCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGC GGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACC ACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCU CCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCC GGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCU UCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCG GCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCC CCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGG UGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACG GCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCC CCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGA AGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACG AGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGG

[1231]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACA AGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCG UGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGC GGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCG ACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACG GCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGA AGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACG CCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACC CCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGA AGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGU CCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCU ACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGC GGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAG AAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCC AUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUC CUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGG AUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCC CUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAG AAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCC UACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGC CGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGC UCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACC CAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAG GUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCC UGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGG UAGUGACUAGCACCAGCCUCAAGAACACCC GAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAA CUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAA AUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAA AAGAAAGUUUCUUCACAUUCU
144	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性开放阅读框	AUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCC GCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAG AAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGAG GCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGGCACCUGA UGGACCCCCACAUCUUCACCUCCAACUUCA ACAACGGCAUCGGCCGGCACAAGACCUACC UGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUGGACAACG GCACCUCCGUGAAGAUGGACCAGCACCGGG GCUUCCUGCACAACCAGGCCAAGAACCUGC UGUGCGGCUUCUACGGCCGGCACGCCGAGC UGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCCUCCCUGC AGCUGGACCCCGCCCAGAUCUACCGGGUGA CCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCCUGCUUCU CCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUGCGGGCCU UCCUGCAGGAGAACACCCACGUGCGGCUGC GGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUACGACUACG ACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUGCAGAUGC

[1232]

SEQ ID NO	说明	序列
		UGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUGUCCAUCA
		UGACCUACGACGAGUUCAAGCACUGCUGGG
		ACACCUUCGUGGACCACCAGGGCUGCCCCU
		UCCAGCCCUGGGACGGCCUGGACGAGCACU
		CCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUGCGGGCCA
		UCCUGCAGAACCAGGGCAACUCCGGCUCCG
		AGACCCCCGGCACCUCCGAGUCCGCCACCC
		CCGAGUCCGCAGCGUUCAAACCAAAUCCCA
		UCAACUACAUCCUGGGCCUGGCCAUCGGCA
		UCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGA
		UCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGA
		UCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGG
		CCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGG
		CCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGC
		GGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGC
		UGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGG
		AGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACG
		AGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACA
		CCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGG
		ACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCG
		CCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGG
		GCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCG
		AGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGC
		UGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCC
		UGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCG
		AGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGU
		CCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACU
		ACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGC
		AGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGC
		AGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCG
		GCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGC
		UGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCG
		ACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCA
		CCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCA
		AGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCU
		GGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCC
		UGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCG
		ACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGC
		CCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCC
		AGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACA
		CCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCA
		AGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGG
		AGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGG
		CCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGA
		AGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGC
		AGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGU
		UCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGC
		UGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGG

[1233]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACA
		AGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGC
		GGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCA
		AGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCU
		ACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCG
		AGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCG
		CCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGC
		GGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCA
		ACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCG
		CCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGG
		UGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGA
		UCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAG
		GACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGG
		GAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCC
		AAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUG
		UACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUAC
		UCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUG
		AACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCAC
		GCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGAC
		UCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGC
		UCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACC
		CCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAAC
		UCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGG
		GUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAG
		AAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGAC
		GAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAAC
		GACACCCGGUACGUGAACCGCUUCCUGUGC
		CAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACC
		GGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCC
		AACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGC
		UUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAG
		AACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUG
		GUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAG
		CAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAG
		GAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUC
		GACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAG
		AAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUC
		UUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUC
		GGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAG
		GAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACC
		CUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCC
		GAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUG
		UUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUG
		UCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCC
		GCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAG
		AUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAG
		AUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUG
		AACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUG

[1234]

SEQ ID NO	说明	序列
		UACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCC UACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGAC CCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGC GGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAG AAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAAC AAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAAC GGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGC AAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUA CUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGU GGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUG CAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACAC CUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCU GAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAA GGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGA CUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUG GCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUU CCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAU CCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAA GGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCG GCCCCCCGUGCGGUAG
145	APOBEC3A-Nme2D16A 的示例性氨基酸序列	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKK KKGGSGGGEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGI GRHKTYLCYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHN QAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIY RVTWFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRL RIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMT YDEFKHCWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQA LSGRLRAILQNQGNSGSETPGTSESATPESAAF KPNPINYILGLAIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLI DLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRL TRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLI KSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLI KHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNA HALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGD YSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGL KEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPA EPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERP LTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLED TAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRAL EKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDE DITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKA LRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTE EKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVR RYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEEN RKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRL YEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHAL PFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEY FNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILL

[1235]

SEQ ID NO	说明	序列
		QKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHIL LTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAE NDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKE MNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQ EVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKL SSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTL RSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMV NYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPK DNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKN AYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPI YAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKY DLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAW HDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIR PCRLKKRPPVR*
146	NLS-NLS-APOBEC3A-L070-Nme2D16A 的示例性氨基酸序列	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKK KKGGSGGGEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGI GRHKTYLCYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHN QAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIY RVTWFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRL RIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMT YDEFKHCWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQA LSGRLRAILQNQGNGTKDSTKDIPETPSKDAAF KPNPINYILGLAIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLI DLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRL TRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLI KSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLI KHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNA HALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGD YSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGL KEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPA EPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERP LTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLED TAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRAL EKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDE DITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKA LRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTE EKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVR RYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEEN RKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRL YEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHAL PFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEY FNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILL QKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHIL LTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAE NDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKE MNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQ EVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKL SSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTL

[1236]

SEQ ID NO	说明	序列
		RSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMV NYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPK DNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKN AYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPI YAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKY DLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAW HDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIR PCRLKKRPPVR
147	编码 BC22-Nme2D16A (Nme2 BC22n)的 mRNA	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCG GCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGG AGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGG CCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCU CCGGCGGCGGCGAGGCCUCCCCCGCCUCCG GCCCCCGGCACCUGAUGGACCCCCACAUCU UCACCUCCAACUUCAACAACGGCAUCGGCC GGCACAAGACCUACCUGUGCUACGAGGUGG AGCGGCUGGACAACGGCACCUCCGUGAAGA UGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGCACAACC AGGCCAAGAACCUGCUGUGCGGCUUCUACG GCCGGCACGCCGAGCUGCGGUUCCUGGACC UGGUGCCCUCCCUGCAGCUGGACCCCGCCC AGAUCUACCGGGUGACCUGGUUCAUCUCCU GGUCCCCCUGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCG GCGAGGUGCGGGCCUUCCUGCAGGAGAACA CCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCC GGAUCUACGACUACGACCCCCUGUACAAGG AGGCCCUGCAGAUGCUGCGGGACGCCGGCG CCCAGGUGUCCAUCAUGACCUACGACGAGU UCAAGCACUGCUGGGACACCUUCGUGGACC ACCAGGGCUGCCCCUUCCAGCCCUGGGACG GCCUGGACGAGCACUCCCAGGCCCUGUCCG GCCGGCUGCGGGCCAUCCUGCAGAACCAGG GCAACUCCGGCUCCGAGACCCCCGGCACCU CCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGCAGCGU UCAAACCAAAUCCCAUCAACUACAUCCUGG GCCUGGCCAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCU GGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAG AACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUG CGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAG ACCGGCGACUCCCCUGGCCAUGGCCCGGCGG CUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGG CGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGG CGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAG GCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUC AAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUG CGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACC CCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCAC

[1237]

SEQ ID NO	说明	序列
		CUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAG
		CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG
		GAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCC
		AACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGAC
		UUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAAC
		AAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGG
		AACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUC
		UCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUC
		CUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGC
		AACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAG
		GGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGG
		CCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAG
		AUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCC
		GAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACC
		GCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUG
		AACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCC
		GAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCC
		ACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCC
		AAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUG
		CUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAG
		GGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAG
		GCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUAC
		CACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAG
		GGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAAC
		CUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGC
		ACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAG
		GACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUG
		CAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAG
		CACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUC
		UCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCC
		CUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAG
		GCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUAC
		GGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUAC
		CUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGG
		AACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAG
		GCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGG
		CGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUC
		GAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUC
		AAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCA
		GGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGG
		CCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCA
		ACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACA
		UCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGC
		ACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGA
		UCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCU
		ACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCU
		CCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACA
		AGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGA

[1238]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACU UCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGC AGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCC GGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCC UGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCA AGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACG UGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCG ACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGC GGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCA CCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGC GGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACC ACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCU CCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCC GGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCU UCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCG GCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCC CCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGG UGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACG GCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCC CCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGA AGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACG AGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGG CCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACA AGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCG UGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGC GGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCG ACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACG GCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGA AGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACG CCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACC CCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGA AGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGU CCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCU ACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGC GGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAG AAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCC AUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUC CUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGG AUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCC CUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAG AAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCC UACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGC CGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGC UCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACC CAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAG GUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCC UGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGG UAGUGACUAGCACCAGCCUCAAGAACACCC

[1239]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAA CUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAA AUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAA AAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAA AAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAA AAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAA AAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAA AAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAACUCAA AAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAA AAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAGGGA AAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACA AAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAUCG AAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAACG AAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAGA CAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGU UAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAU UUAAAAAAAAAAAAUCUAG
148	具有接头 L070 的碱基编辑器的氨基酸序列	MEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYL CYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLC GFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTWFIS WSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARI YDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKH CWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLR AILQNQGNGTKDSTKDIPETPSKDDKKYSIGLA IGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSI KKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRK NRICYLQEIFSNEMAKVDDSFFHRLEESFLVEE DKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKL VDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLN PDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDA KAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNL IALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDD LDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILR VNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVR QQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEF YKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTF DNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNRE KIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEE TITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLP NEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMR KPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKED YFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKII KDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEER LKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKL INGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHD DSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPA IKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMA RENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILK

[1240]

SEQ ID NO	说明	序列
		EHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQEL DINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSD KNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLI TQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVET RQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVIT LKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYL NAVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRK MIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLAN GEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVL SMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLI ARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEK GKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLEAK GYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASA GELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSP EDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILA DANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLT NLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIH QSITGLYETRIDLSQLGGDGGGSPKKKRKV
149	D16A Nme2Cas9 切口酶的氨基酸序列	MAAFKPNPINYILGLAIGIASVGWAMVEIDEEE NPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLAR SVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFD ENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV ANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRN QRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPH VSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHC TFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQ GSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLL GLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHA ISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLF KTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQI SLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGK KNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVIN GVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKR QEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDIL KLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEI DHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQ TPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKK QRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFV ADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLR KVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRF VRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRT LLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLA DLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNA KQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESG VLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKG

[1241]

SEQ ID NO	说明	序列
		KNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSY TFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSS NGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQ VNELGKEIRPCRLKKRPPVR
150	D16A Nme2Cas9 切口酶的编码序列	GCTGCTTTTAAGCCTAATCCTATTAATTATATT CTTGGTCTTGCTATTGGTATTGCTTCTGTTGGT TGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGGAGA ATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTCGTG TTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGACTGG TGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTGCTC GTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGTGCT CATCGTCTTCTTCGTGCTCGTCGTCTTCTTAA GCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTGATTTT GATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCCTAA TACTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTCTTG ATCGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCTGCT GTTCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGTTAT CTTTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGACTG CTGATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAGGGT GTTGCTAATAATGCTCATGCTCTTCAGACTGG TGATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTCTTA ATAAGTTTGAGAAGGAGTCTGGTCATATTCGT AATCAGCGTGGTGATTATTCTCATACTTTTTCT CGTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTATTCTTCT TTTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAATCCT CATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTATTGA GACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTCTTT CTGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGTCAT TGTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGCTG CTAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTATTT GGCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCTTG AGCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATACT GAGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTATCG TAAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCGTA AGCTTCTTGGTCTTGAGGATACTGCTTTTTTT AAGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCTGA GGCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTATC ATGCTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGGGT CTTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTTTC TTCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGCTT TTTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTACTG GTCGTCTTAAGGATCGTGTTCAGCCTGAGATT CTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTTGAT AAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCTTCG TCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTAAGC GTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTATGGT GATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGGAGA AGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATGAGA

[1242]

SEQ ID NO	说明	序列
		TTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTTCTC AGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTTCGT CGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATTGAG ACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTAAGG ATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGAGGA GAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCTGCT AAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTTGG TGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCTTC GTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTCTT TATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGTTCGTCTT AATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATCATGC TCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCTTT TAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGAGA ATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATGAG TATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAGTG GCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTTCT CGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATTCT TCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAAGG AGTGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTAATC GTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCATATTC TTCTTACTGGTAAGGGTAAGCGTCGTGTTTTT GCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCTTCGT GGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTGCTGA GAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCTGTTG TTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCAGCAG AAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGGAGAT GAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGATAAGG AGACTGGTAAGGTTCTTCATCAGAAGACTCA TTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCTCAGG AGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCCTGAT GGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGATACTC CTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGAGAA GCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATGAGT ATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTCCTA ATCGTAAGATGTCTGGTGCTCATAAGGATACT CTTCGTTCTGCTAAGCGTTTTGTTAAGCATAA TGAGAAGATTTCTGTTAAGCGTGTTTGGCTTA CTGAGATTAAGCTTGCTGATCTTGAGAATATG GTTAATTATAAGAATGGTCGTGAGATTGAGCT TTATGAGGCTCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCTT ATGGTGGTAATGCTAAGCAGGCTTTTGATCCT AAGGATAATCCTTTTTATAAGAAGGGTGGTCA GCTTGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGAAGACT CAGGAGTCTGGTGTTCTTCTTAATAAGAAGA ATGCTTATACTATTGCTGATAATGGTGATATGG TTCGTGTTGATGTTTTTTGTAAGGTTGATAAG AAGGGTAAGAATCAGTATTTTATTGTTCCTATT TATGCTTGGCAGGTTGCTGAGAATATTCTTCC

[1243]

SEQ ID NO	说明	序列
		TGATATTGATTGTAAGGGTTATCGTATTGATGA TTCTTATACTTTTTGTTTTTCTCTTCATAAGTAT GATCTTATTGCTTTTCAGAAGGATGAGAAGTC TAAGGTTGAGTTTGCTTATTATATTAATTGTGA TTCTTCTAATGGTCGTTTTTATCTTGCTTGGCA TGATAAGGGTTCTAAGGAGCAGCAGTTTCGT ATTTCTACTCAGAATCTTGTTCTTATTCAGAA GTATCAGGTTAATGAGCTTGGTAAGGAGATTC GTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGTCCTCCTGTT CGT
151	D16A Nme2Cas9 切口酶的编码序列	GCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACA TCCTGGGCCTGGCCATCGGCATCGCCTCCGT GGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGA GGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGC GTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCC AAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGC GGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCG GCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCG GCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCA GGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATC AAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGC GGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCC CCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCT GATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGG AAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAG CTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAAC AACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCC GGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTT CGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCA GCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGG AAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGT TCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCC ACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCG AGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCT GTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGC CACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTT CATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGG ATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGA CCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACG AGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGC CCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGA CACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGC AAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGG AGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGC CCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAA GTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAG GACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCA

[1244]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGA
		AGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGG
		CCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTT
		CGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGG
		ATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGT
		ACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGA
		CCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAA
		GATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAG
		ATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGT
		CCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGT
		GCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCAC
		ATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCT
		TCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGC
		AGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAG
		GCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCA
		ACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACAT
		CCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCAC
		GGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCA
		ACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT
		GGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGG
		ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGC
		TGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGG
		GCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGG
		CAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTT
		CAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCC
		CGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA
		AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCA
		ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT
		CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTG
		CTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTC
		GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC
		GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG
		CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG
		CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT
		GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC
		AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC
		ATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCAC
		CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT
		TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT
		CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA
		GGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGAC
		CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC
		GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT
		TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC
		CGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCC
		AAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATC
		TCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCA
		AGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTA

[1245]

SEQ ID NO	说明	序列
		CAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGA GGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGC GGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAG GACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGC TGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCC AGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGA ACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACAT GGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGAC AAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGC CCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACAT CCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGG ATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCT GCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAG GACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACT ACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTT CTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAG GAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACC TGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGA GCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTG AAGAAGCGGCCCCCCGTGCGG
152	D16A Nme2Cas9 切口酶的编码序列	GCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACA TCCTGGGCCTGGCCATCGGCATCGCCTCCGT GGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGA GGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGC GTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCC AAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGC GGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCG GCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCG GCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCA GGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATC AAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGC GGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCC CCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCT GATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGG AAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAG CTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAAC AACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCC GGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTT CGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCA GCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGG AAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGT TCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCC ACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCG AGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCT GTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGC CACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTT CATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGG

[1246]

SEQ ID NO	说明	序列
		ATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGA CCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACG AGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGC CCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGA CACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGC AAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGG AGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGC CCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAA GTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAG GACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCA AGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGA AGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGG CCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTT CGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGG ATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGT ACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGA CCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAA GATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAG ATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGT CCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGT GCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCAC ATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCT TCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGC AGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAG GCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCA ACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACAT CCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCAC GGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCA ACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT GGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGG ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGC TGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGG GCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGG CAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTT CAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCC CGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCA ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTG CTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTC GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC ATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCAC CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT

[1247]

SEQ ID NO	说明	序列
		TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA GGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGAC CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC CGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCC AAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATC TCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCA AGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTA CAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGA GGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGC GGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAG GACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGC TGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCC AGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGA ACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACAT GGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGAC AAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGC CCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACAT CCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGG ATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCT GCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAG GACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACT ACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTT CTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAG GAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACC TGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGA GCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTG AAGAAGCGGCCCCCCGTGCGG
153	D16A Nme2Cas9 切口酶的开放阅读框	ATGGCTGCTTTTAAGCCTAATCCTATTAATTAT ATTCTTGGTCTTGCTATTGGTATTGCTTCTGTT GGTTGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGG AGAATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTC GTGTTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGAC TGGTGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTG CTCGTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGT GCTCATCGTCTTCTTCGTGCTCGTCGTCTTCT TAAGCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTGAT TTTGATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCC TAATACTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTC TTGATCGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCT GCTGTTCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGT TATCTTTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGA CTGCTGATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAG GGTGTTGCTAATAATGCTCATGCTCTTCAGAC TGGTGATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTC TTAATAAGTTTGAGAAGGAGTCTGGTCATATT

[1248]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGTAATCAGCGTGGTGATTATTCTCATACTTTT TCTCGTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTATTCT TCTTTTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAAT CCTCATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTAT TGAGACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTC TTTCTGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGT CATTGTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGC TGCTAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTAT TTGGCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCT TGAGCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATA CTGAGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTAT CGTAAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCG TAAGCTTCTTGGTCTTGAGGATACTGCTTTTT TTAAGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCT GAGGCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTA TCATGCTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGG GTCTTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTT TCTTCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGC TTTTTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTAC TGGTCGTCTTAAGGATCGTGTTCAGCCTGAG ATTCTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTT GATAAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCT TCGTCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTA AGCGTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTAT GGTGATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGG AGAAGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATG AGATTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTT CTCAGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTT CGTCGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATT GAGACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTA AGGATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGA GGAGAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCT GCTAAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTT GGTGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCT TCGTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTC TTTATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGTTCGTC TTAATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATCAT GCTCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCT TTTAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGA GAATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATG AGTATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAG TGGCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTT CTCGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATT CTTCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAA GGAGTGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTAA TCGTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCATAT TCTTCTTACTGGTAAGGGTAAGCGTCGTGTTT TTGCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCTTC

[1249]

SEQ ID NO	说明	序列
		GTGGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTGCT GAGAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCTGT TGTTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCAGC AGAAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGGAG ATGAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGATAA GGAGACTGGTAAGGTTCTTCATCAGAAGACT CATTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCTCA GGAGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCCTG ATGGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGATAC TCCTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGAGA AGCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATGAG TATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTCCT AATCGTAAGATGTCTGGTGCTCATAAGGATAC TCTTCGTTCTGCTAAGCGTTTTGTTAAGCATA ATGAGAAGATTTCTGTTAAGCGTGTTTGGCTT ACTGAGATTAAGCTTGCTGATCTTGAGAATAT GGTTAATTATAAGAATGGTCGTGAGATTGAGC TTTATGAGGCTCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCT TATGGTGGTAATGCTAAGCAGGCTTTTGATCC TAAGGATAATCCTTTTTATAAGAAGGGTGGTC AGCTTGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGAAGAC TCAGGAGTCTGGTGTTCTTCTTAATAAGAAG AATGCTTATACTATTGCTGATAATGGTGATATG GTTCGTGTTGATGTTTTTTGTAAGGTTGATAA GAAGGGTAAGAATCAGTATTTTATTGTTCCTA TTTATGCTTGGCAGGTTGCTGAGAATATTCTT CCTGATATTGATTGTAAGGGTTATCGTATTGAT GATTCTTATACTTTTTGTTTTTCTCTTCATAAG TATGATCTTATTGCTTTTCAGAAGGATGAGAA GTCTAAGGTTGAGTTTGCTTATTATATTAATTG TGATTCTTCTAATGGTCGTTTTTATCTTGCTTG GCATGATAAGGGTTCTAAGGAGCAGCAGTTT CGTATTTCTACTCAGAATCTTGTTCTTATTCAG AAGTATCAGGTTAATGAGCTTGGTAAGGAGA TTCGTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGTCCTCCT GTTCGTUGA
154	D16A Nme2Cas9 切口酶的开放阅读框	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACT ACATCCTGGGCCTGGCCATCGGCATCGCCTCC GTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGG AGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGG CGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCC AAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGC GGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCG GCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCG GCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCA GGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATC AAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGC GGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCC

[1250]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCT GATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGG AAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAG CTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAAC AACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCC GGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTT CGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCA GCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGG AAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGT TCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCC ACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCG AGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCT GTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGC CACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTT CATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGG ATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGA CCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACG AGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGC CCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGA CACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGC AAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGG AGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGC CCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAA GTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAG GACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCA AGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGA AGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGG CCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTT CGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGG ATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGT ACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGA CCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAA GATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAG ATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGT CCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGT GCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCAC ATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCT TCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGC AGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAG GCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCA ACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACAT CCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCAC GGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCA ACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT GGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGG ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGC TGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGG

[1251]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGG CAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTT CAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCC CGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCA ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTG CTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTC GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC ATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCAC CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA GGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGAC CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC CGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCC AAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATC TCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCA AGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTA CAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGA GGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGC GGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAG GACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGC TGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCC AGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGA ACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACAT GGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGAC AAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGC CCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACAT CCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGG ATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCT GCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAG GACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACT ACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTT CTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAG GAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACC TGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGA GCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTG AAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGUGA
155	D16A Nme2Cas9 切口酶的开放阅读框	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACT ACATCCTGGGCCTGGCCATCGGCATCGCCTCC

[1252]

SEQ ID NO	说明	序列
		GTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGG AGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGG CGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCC AAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGC GGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCG GCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCG GCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCA GGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATC AAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGC GGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCC CCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCT GATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGG AAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAG CTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAAC AACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCC GGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTT CGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCA GCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGG AAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGT TCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCC ACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCG AGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCT GTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGC CACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTT CATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGG ATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGA CCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACG AGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGC CCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGA CACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGC AAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGG AGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGC CCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAA GTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAG GACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCA AGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGA AGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGG CCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTT CGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGG ATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGT ACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGA CCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAA GATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAG ATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGT CCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGT GCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCAC ATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCT

[1253]

SEQ ID NO	说明	序列
		TCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGC AGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAG GCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCA ACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACAT CCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCAC GGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCA ACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT GGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGG ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGC TGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGG GCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGG CAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTT CAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCC CGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCA ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTG CTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTC GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC ATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCAC CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA GGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGAC CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC CGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCC AAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATC TCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCA AGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTA CAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGA GGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGC GGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAG GACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGC TGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCC AGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGA ACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACAT GGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGAC AAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGC CCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACAT CCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGG ATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCT

[1254]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAG GACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACT ACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTT CTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAG GAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACC TGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGA GCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTG AAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGUAA
156	Cas9 氨基酸序列	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKF KVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLK RTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFF HRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEK YPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKF RGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFE ENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLP GEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAK LQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAK NLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEH HQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKL NREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQ EDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNS RFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIE RMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELT KVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNR KVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNAS LGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLT LFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRY TGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFA NRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLH EHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGR HKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIE EGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQN GRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDD SIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKN YWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDK AGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDEN DKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREIN NYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKLESEFVYG DYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIM NFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDK GRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKE SILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVA YSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSS FEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELE NGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYL ASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEII EQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIR

[1255]

SEQ ID NO	说明	序列
		EQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYT STKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGGDGG GSPKKKRKV
157	由 mRNA C 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列	MTGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDE EENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRL ARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAAD FDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWS AVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLK GVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHI RNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGN PHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLG HCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRIL EQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQAR KLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKA YHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTA FSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDK FVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGD HYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQA RKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRK EIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPK SKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKG YVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNK GNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPR SKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLC QFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFW GLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKI TRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFP QPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEK LRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKM SGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIK LADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGG NAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQE SGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKK GKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDS YTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDS SNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKY QVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSEFE SPKKKRKVE
158	由 mRNA H 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEE NPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLAR SVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFD ENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV ANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRN QRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPH VSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHC TFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQ GSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLL

[1256]

SEQ ID NO	说明	序列
		GLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHA ISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLF KTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQI SLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGK KNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVIN GVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKR QEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDIL KLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEI DHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQ TPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKK QRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFV ADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLR KVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRF VRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRT LLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLA DLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNA KQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESG VLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKSGG GSPKKKRKVSGGSGKNQYFIVPIYAWQVAENIL PDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEK SKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQF RISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPV R
159	由 mRNA I 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列	MVPKKKRKVAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWA MVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSL AMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKRE GVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDR KLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETAD KELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNK FEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFE KQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGD AVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLT KLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSK LTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEAST LMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSEL QDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALL KHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEAC AEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLR ALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKS FKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNF VGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVR LNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGS ENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVE TSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYV NRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLL RGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAM

[1257]

SEQ ID NO	说明	序列
		QQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQK THFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADT PEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPN RKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWL TEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEA YGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEK TQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKV DKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRI DDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYIN CDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLI QKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRYPYDVPDY AAAPAAKKKKLD
160	由 mRNA J 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEE NPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLAR SVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFD ENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV ANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRN QRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPH VSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHC TFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQ GSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLL GLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHA ISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLF KTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQI SLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGK KNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVIN GVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKR QEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDIL KLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEI DHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQ TPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKK QRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFV ADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLR KVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRF VRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRT LLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLA DLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNA KQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESG VLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKG KNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSY TFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSS NGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQ VNELGKEIRPCRLKKRPPVR
161	由 mRNA K 编码的	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEE NPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLAR

[1258]

SEQ ID NO	说明	序列
	Nme2Cas9 的氨基酸序列	SVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFD ENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV ANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRN QRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPH VSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHC TFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQ GSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLL GLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHA ISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLF KTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQI SLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGK KNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVIN GVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKR QEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDIL KLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEI DHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQ TPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKK QRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFV ADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLR KVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRF VRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRT LLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLA DLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNA KQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESG VLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKG KNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSY TFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSS NGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQ VNELGKEIRPCRLKKRPPVR
162	由 mRNA L 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列	MDGSGGGSPKKKRKVGGSGGGAAFKPNPINYI LGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVF ERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHR LLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTP WQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLS QRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGD FRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRK DLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLL MTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKN TYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERAT LMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLR YGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKD KKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKD RVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLM EQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIP ADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARI

[1259]

SEQ ID NO	说明	序列
		HIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKA AAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGK CLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDD SFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNS REWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGF KECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRR VFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHAL DAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGK TIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVF GKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAV HEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFV KHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGR EIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYK KGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADN GDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVA ENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQK DEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKE QQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKR PPVR
163	由 mRNA M 编码的带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的氨基酸序列	MDGSGGGSPKKKRKVGGSGGGAAFKPNPINYI LGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVF ERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHR LLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTP WQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLS QRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGD FRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRK DLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLL MTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKN TYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERAT LMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLR YGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKD KKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKD RVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLM EQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIP ADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARI HIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKA AAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGK CLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDD SFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNS REWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGF KECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRR VFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHAL DAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGK TIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVF GKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAV HEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFV KHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGR EIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYK

[1260]

SEQ ID NO	说明	序列
		KGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADN GDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVA ENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQK DEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKE QQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKR PPVRSESATPESVSGWRLFKKIS
164	由 mRNA N 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列	MDGSGGGSPKKKRKVGGSGGGAAFKPNPINYI LGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVF ERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHR LLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTP WQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLS QRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGD FRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRK DLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLL MTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKN TYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERAT LMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLR YGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKD KKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKD RVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLM EQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIP ADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARI HIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKA AAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGK CLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDD SFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNS REWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGF KECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRR VFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHAL DAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGK TIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVF GKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAV HEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFV KHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGR EIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYK KGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADN GDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVA ENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQK DEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKE QQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKR PPVRSGKRTADGSGGGSPAAKKKKLD
165	由 mRNA O 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKK KKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWA MVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSL AMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKRE GVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDR KLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETAD KELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNK

[1261]

SEQ ID NO	说明	序列
		FEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFE KQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGD AVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLT KLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSK LTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEAST LMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSEL QDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALL KHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEAC AEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLR ALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKS FKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNF VGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVR LNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGS ENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVE TSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYV NRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLL RGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAM QQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQK THFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADT PEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPN RKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWL TEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEA YGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEK TQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKV DKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRI DDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYIN CDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLI QKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
166	由 mRNA P 编码的带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的氨基酸序列	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKK KKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWA MVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSL AMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKRE GVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDR KLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETAD KELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNK FEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFE KQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGD AVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLT KLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSK LTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEAST LMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSEL QDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALL KHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEAC AEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLR ALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKS FKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNF VGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVR LNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGS

[1262]

SEQ ID NO	说明	序列
		ENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVE TSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYV NRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLL RGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAM QQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQK THFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADT PEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPN RKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWL TEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEA YGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEK TQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKV DKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRI DDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYIN CDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLI QKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESV SGWRLFKKIS
167	由 mRNA Q 编码的 Nme2Cas9 的氨基酸序列	MDGSGGGSEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSG GGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEE ENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLA RSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADF DENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSA VLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKG VANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIR NQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNP HVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGH CTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILE QGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARK LLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAY HAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFS LFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFV QISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHY GKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARK VINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIE KRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKD ILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVE IDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQ TPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKK QRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFV ADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLR KVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRF VRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRT LLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLA DLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNA KQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESG VLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKG KNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSY

[1263]

SEQ ID NO	说明	序列
		TFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSS NGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQ VNELGKEIRPCRLKKRPPVR
168	编码 Nme2Cas9 的 mRNA C	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGACCGGUGCCGCCU UCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGG GCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCU GGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAG AACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUG CGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAG ACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGG CUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGG CGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGG CGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAG GCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUC AAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUG CGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACC CCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCAC CUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAG CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG GAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCC AACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGAC UUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAAC AAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGG AACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUC UCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUC CUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGC AACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAG GGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGG CCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAG AUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCC GAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACC GCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUG AACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCC GAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCC ACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCC AAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUG CUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAG GGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAG GCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUAC CACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAG GGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAAC CUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGC ACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAG GACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUG CAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAG CACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUC UCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCC

[1264]

SEQ ID NO	说明	序列
		CUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAG GCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUAC GGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUAC CUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGG AACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAG GCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGG CGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUC GAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUC AAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCA GGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGG CCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCA ACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACA UCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGC ACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGA UCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCU ACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCU CCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACA AGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGA ACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACU UCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGC AGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCC GGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCC UGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCA AGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACG UGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCG ACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGC GGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCA CCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGC GGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACC ACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCU CCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCC GGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCU UCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCG GCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCC CCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGG UGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACG GCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCC CCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGA AGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACG AGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGG CCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACA AGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCG UGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGC GGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCG ACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACG GCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGA AGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACG CCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACC

[1265]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGA AGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGU CCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCU ACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGC GGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAG AAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCC AUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUC CUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGG AUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCC CUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAG AAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCC UACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGC CGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGC UCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACC CAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAG GUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCC UGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGG UCCGGAAAGCGGACCGCCGACGGCUCCGAG UUCGAGUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUG GAGUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCC GAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAA CUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAA AUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAA AAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAA AAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAA AAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUA AAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGA AAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUC AAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACC UAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAG GGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAA CACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAA AUCGAAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAA AACGAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAA AAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAA AAAGUUAAAAAA
169	编码 Nme2Cas9 的 mRNA H	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCAT GGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTAC ATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGT GGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGA GGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGC GTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCC AAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGC GGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCG GCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCG GCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCA GGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATC AAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGC

[1266]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCC CCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCT GATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGG AAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAG CTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAAC AACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCC GGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTT CGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCA GCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGG AAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGT TCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCC ACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCG AGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCT GTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGC CACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTT CATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGG ATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGA CCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACG AGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGC CCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGA CACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGC AAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGG AGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGC CCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAA GTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAG GACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCA AGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGA AGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGG CCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTT CGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGG ATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGT ACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGA CCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAA GATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAG ATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGT CCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGT GCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCAC ATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCT TCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGC AGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAG GCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCA ACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACAT CCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCAC GGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCA ACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT GGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGG ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGC

[1267]

SEQ ID NO	说明	序列
		TGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGG GCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGG CAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTT CAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCC CGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCA ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTG CTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTC GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC ATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCAC CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA GGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGAC CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC CGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCC AAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATC TCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCA AGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTA CAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGA GGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGC GGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAG GACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGC TGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCC AGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGA ACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACAT GGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGAC AAGTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAG CGGAAGGTGTCCGGCGGCTCCGGCAAGAAC CAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCA GGTGGCCGAGAACATCCTGCCCGACATCGAC TGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACA CCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTG ATCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAGTCCAAG GTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACT CCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCA CGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCG GATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAG AAGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAGGAG ATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCC

[1268]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCGTGCGGTAGCTAGCaccagcctcaagaacacccgaatg gagtctctaagctacataataccaacttacactttacaaaatgttgtccccca aaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttcttcacattct CTCGAGAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAA AAACGGAAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAA AAAATATAAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAA AAAACGAAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAA AAACTCAAAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAA AAACCTAAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAA AAAGGGAAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAA AAAACACAAAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAA AAAATCGAAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAA AAAACGAAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAA AAAAGACAAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAA AAAAGTTAAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAA AAAATTTAAAAAAAAAAAAT
170	编码 Nme2Cas9 的 mRNA I	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCAT GGTGCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGCCGC CTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCTGG GCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTG GGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAA CCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGG GTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACC GGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGG CCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCG GGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCGGCTG CTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCC GACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCC TGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGC CGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAG TGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGC ACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACG AGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCG CCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACAACGCCC ACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCC CGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAA GGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGG CGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAGGAC CTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTCGAGA AGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGT CCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCC TGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGG CGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGC ACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCA AGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTG GCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTG GAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACCGAC ACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCT

[1269]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGC
		CCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGC
		CTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGAC
		AACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGA
		AGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGA
		GAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCC
		CCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGACGAG
		ATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCG
		ACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACC
		GGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCT
		GAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTGCAG
		ATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGC
		CCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACG
		AGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTA
		CGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTA
		CCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGG
		AACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCCAGG
		CCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGC
		GGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGA
		GACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAA
		GGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGA
		GGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGC
		CGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAACTTC
		GTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGA
		AGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCA
		AGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCT
		GGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGA
		GATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACC
		TGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGG
		TGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCA
		ACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAA
		GGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAA
		GGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGG
		TCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGT
		TCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAACC
		TGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCCT
		GTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTG
		ACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTCGCC
		TCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGG
		GCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCG
		AGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCG
		TGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCA
		GCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAG
		GAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCG
		ACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGA
		AGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTT
		CGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCGGC
		AAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAG

[1270]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGACCCTG CTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGG CCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGT GTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGC GCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAG CGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCCG TGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCT GGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTACAAG AACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCC TGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCA ACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACA ACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGT GAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGA GTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGC CTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTG CGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAG AAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCA TCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCT GCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGGATC GACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCA CAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAGGAC GAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACA TCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTA CCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGA GCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTG GTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGC TGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAA GAAGCGGCCCCCCGTGCGGTACCCCTACGAC GTGCCCGACTACGCCGCCGCCCCCGCCGCCA AGAAGAAGAAGCTGGACTAGCTAGCaccagcctc aagaacacccgaatggagtctctaagctacataataccaacttacacttta caaaatgttgtcccccaaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaag aaagtttcttcacattctCTCGAGAAAAAAAAAAAATG GAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAG GTAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAAAC ATAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACG TAAAAAAAAAAAACTCAAAAAAAAAAAAGA TAAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAAATG TAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAAC GCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAT GCAAAAAAAAAAAATCGAAAAAAAAAAAAT CTAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACC CAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAATA GAAAAAAAAAAAAGTTAAAAAAAAAAAACT GAAAAAAAAAAAATTTAAAAAAAAAAAAT
171	编码 Nme2Cas9 的 mRNA J	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGUGCCCAAGAAGA AGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCG

[1271]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGA
		AGAAGAUGGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCA
		UCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCA
		UCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGA
		UCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGA
		UCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGG
		CCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGG
		CCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGC
		GGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGC
		UGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGG
		AGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACG
		AGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACA
		CCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGG
		ACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCG
		CCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGG
		GCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCG
		AGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGC
		UGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCC
		UGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCG
		AGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGU
		CCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACU
		ACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGC
		AGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGC
		AGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCG
		GCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGC
		UGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCG
		ACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCA
		CCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCA
		AGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCU
		GGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCC
		UGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCG
		ACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGC
		CCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCC
		AGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACA
		CCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCA
		AGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGG
		AGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGG
		CCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGA
		AGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGC
		AGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGU
		UCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGC
		UGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGG
		AGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACA
		AGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGC
		GGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCA
		AGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCU
		ACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCG
		AGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCG

[1272]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGC
		GGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCA
		ACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCG
		CCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGG
		UGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGA
		UCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAG
		GACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGG
		GAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCC
		AAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUG
		UACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUAC
		UCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUG
		AACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCAC
		GCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGAC
		UCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGC
		UCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACC
		CCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAAC
		UCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGG
		GUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAG
		AAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGAC
		GAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAAC
		GACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGC
		CAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACC
		GGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCC
		AACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGC
		UUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAG
		AACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUG
		GUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAG
		CAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAG
		GAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUC
		GACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAG
		AAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUC
		UUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUC
		GGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAG
		GAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACC
		CUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCC
		GAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUG
		UUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUG
		UCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCC
		GCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAG
		AUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAG
		AUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUG
		AACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUG
		UACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCC
		UACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGAC
		CCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGC
		GGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAG
		AAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAAC
		AAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAAC

[1273]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGC AAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUA CUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGU GGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUG CAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACAC CUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCU GAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAA GGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGA CUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUG GCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUU CCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAU CCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAA GGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCG GCCCCCCGUGCGGGAGGACAAGCGGCCCGC CGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAA GAAGAAGUACCCCUACGACGUGCCCGACUA CGCCGGCUACCCCUACGACGUGCCCGACUA CGCCGGCUCCUACCCCUACGACGUGCCCGA CUACGCCGCCGCCCCCGCCGCCAAGAAGAA GAAGCUGGACUAGCUAGCACCAGCCUCAAG AACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUA AUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUC CCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCC UAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUC UCGAGAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAA AAACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAA AAAAUAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAA AAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAA AAAAACUCAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAA AAAAAACCUAAAAAAAAAAAAAUGUAAAAA AAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAACGCAAAA AAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAA AAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAAUCUAA AAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACCCAA AAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGA AAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAACUG AAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAUC UAG
172	编码 Nme2Cas9 的 mRNA K	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCatg gccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcg gcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggaga accccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccg aggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcc cggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcg ggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgact tcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacaccccctggcagct gcgggccgccgccctggaccggaagctgacccccctggagtggtccg ccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaa

[1274]

SEQ ID NO	说明	序列
		gaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaag ggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggac ccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacat ccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacct gcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaac ccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatg acccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctggg ccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacaccta caccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatc ctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcgggccac cctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggc ccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcg gtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggc ctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaa gaagtccccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcacc gccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaagg accgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctcctt cgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccc ctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctac ggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccc cccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctg tcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcc cccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttc aaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaag gaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttc gtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgag cagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtg cggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttct cccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctc cgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacgg caaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggaga cctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagtt cgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgt gaaccggttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggca agggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgc tgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccgg caccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgc agcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcga cggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaaga cccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgg gtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacac ccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcc cgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggccccc aaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaa gcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctg accgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaac ggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggc ctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaaccccctt

[1275]

SEQ ID NO	说明	序列
		ctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaaga cccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcg ccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggaca agaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggt ggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcga cgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttc cagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcg actcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaa ggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaag taccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaag aagcggccccccgtgcggTCCGGAAAGCGGACCGCC GACGGCTCCGGAGGAGGAAGCCCCAAGAAG AAGCGGAAGGTGtagctagcaccagcctcaagaacacccga atggagtctctaagctacataataccaacttacactttacaaaatgttgtccc ccaaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttcttcacat tctctcgagAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAA AAACGGAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAA AAAATATAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAA AAAACGAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAA AACTCAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAA ACCTAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAA AGGGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAA AACACAAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAAA AATCGAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAA AACGAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAA AAGACAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAAA AGTTAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAA ATTTAAAAAAAAAAAT
173	编码 Nme2Cas9 的 mRNA L	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCatg GACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAG AAGCGGAAGGTGGGCGGCTCCGGCGGCGGC gccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcg gcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggaga accccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccg aggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcc cggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcg ggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgact tcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacacccctggcagct gcgggccgccgccctggaccggaagctgacccccctggagtggtccg ccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaa gaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaag ggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggac ccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacat ccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacct gcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaac ccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatg acccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctggg ccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacaccta

[1276]

SEQ ID NO	说明	序列
		caccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatc ctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcgggccac cctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggc ccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcg gtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggc ctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaa gaagtccccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcacc gccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaagg accgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctcctt cgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccc ctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctac ggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccc cccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctg tcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcc cccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttc aaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaag gaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttc gtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgag cagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtg cggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttct cccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctc cgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacgg caaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggaga cctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagtt cgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgt gaaccggttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggca agggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgc tgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccgg caccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgc agcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcga cggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaaga cccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgg gtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacac ccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcc cgaggccgtgcacgagtacgtgaccccctgttcgtgtcccgggccccc aaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaa gcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctg accgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaac ggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggc ctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccctt ctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaaga cccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcg ccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggaca agaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggt ggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcga cgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttc cagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcg actcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaa

[1277]

SEQ ID NO	说明	序列
		ggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaag taccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaag aagcggccccccgtgcggtagctagcaccagcctcaagaacacccgaa tggagtctctaagctacataataccaacttacactttacaaaatgttgtcccc caaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttcttcacatt ctctcgagAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAA AACGGAAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAAA AAATATAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAA AAACGAAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAAA AACTCAAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAA ACCTAAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAA AGGGAAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAA AACACAAAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAAAA AATCGAAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAA AACGAAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAA AAGACAAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAAAA AGTTAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAA ATTTAAAAAAAAAAAAT
174	编码带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的 mRNA M	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCG GCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGG GCGGCUCCGGCGGCGGCGCCGCCUUCAAGC CCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGG ACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCA UGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCA UCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGU UCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCG ACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCC GGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGG CCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGC UGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCG ACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCC UGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCG CCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGG AGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCA AGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGA ACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGG GCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACG CCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGA CCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCG AGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGC GGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGA AGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGU UCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCC ACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCG AGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCC UGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGG GCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCA

[1278]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGC
		GGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACC
		UGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGC
		CCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGA
		UGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGA
		CCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCC
		UGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGC
		GGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCA
		CCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCA
		UCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGA
		AGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCU
		CCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCU
		UCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCA
		CCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCG
		AGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCU
		CCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGA
		AGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGG
		AGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCG
		CCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGA
		AGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCC
		CCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCG
		UGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGA
		AGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACG
		GCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCG
		CCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACC
		GGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAG
		AACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCC
		AAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUG
		GGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAG
		CUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAG
		UGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUG
		GUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGA
		GAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGAC
		CUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCU
		GGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGG
		CAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGG
		CAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUU
		CAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCC
		CCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCA
		GAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGU
		GCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACC
		GGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACA
		UCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGG
		UGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACC
		UGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGG
		UGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCC
		UGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCG
		UGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCG

[1279]

SEQ ID NO	说明	序列
		UGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACG
		GCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGG
		UGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGC
		CCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGA
		UCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGC
		CCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGA
		AGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGU
		CCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACG
		UGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCA
		ACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACA
		CCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGC
		ACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGU
		GGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGG
		AGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGG
		AGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCC
		GGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGC
		AGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCU
		ACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCG
		UGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCG
		UGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCA
		UCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGG
		ACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGC
		AAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUAC
		GCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCC
		GACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGAC
		GACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCAC
		AAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGAC
		GAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUAC
		AUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUC
		UACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAG
		GAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAAC
		CUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAAC
		GAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGG
		CUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGAG
		UCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGG
		CGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUAGCUAGCA
		CCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUC
		UAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUUAC
		AAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUC
		GUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUC
		UUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAU
		GGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAA
		GGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAA
		ACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAA
		ACGUAAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAA
		AAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAA
		AAAUGUAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAA
		AAAACGCAAAAAAAAAAAAACACAAAAAAA

[1280]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAAAAUGCAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAA AAAAAAUCUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAA AAAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAA AAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAAGUUAAAA AAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAAUUUAAA AAAAAAAAAUCUAG
175	编码 Nme2Cas9 的 mRNA N	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCG GCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGG GCGGCUCCGGCGGCGGCGCCGCCUUCAAGC CCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGG ACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCA UGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCA UCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGU UCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCG ACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCC GGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGG CCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGC UGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCG ACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCC UGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCG CCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGG AGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCA AGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGA ACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGG GCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACG CCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGA CCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCG AGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGC GGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGA AGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGU UCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCC ACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCG AGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCC UGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGG GCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCA AGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGC GGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACC UGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGC CCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGA UGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGA CCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCC UGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGC GGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCA CCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCA UCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGA AGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCU CCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCU

[1281]

SEQ ID NO	说明	序列
		UCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCA
		CCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCG
		AGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCU
		CCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGA
		AGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGG
		AGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCG
		CCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGA
		AGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCC
		CCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCG
		UGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGA
		AGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACG
		GCUCCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCG
		CCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACC
		GGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAG
		AACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCC
		AAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUG
		GGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAG
		CUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAG
		UGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUG
		GUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGA
		GAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGAC
		CUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCU
		GGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGG
		CAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGG
		CAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUU
		CAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCC
		CCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCA
		GAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGU
		GCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACC
		GGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACA
		UCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGG
		UGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACC
		UGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGG
		UGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCC
		UGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCG
		UGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCG
		UGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACG
		GCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGG
		UGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGC
		CCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGA
		UCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGC
		CCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGA
		AGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGU
		CCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACG
		UGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCA
		ACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACA
		CCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGC
		ACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGU

[1282]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGG AGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGG AGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCC GGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGC AGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCU ACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCG UGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCG UGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCA UCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGG ACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGC AAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUAC GCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCC GACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGAC GACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCAC AAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGAC GAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUAC AUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUC UACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAG GAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAAC CUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAAC GAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGG CUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGGA AAGCGGACCGCCGACGGCUCCGGAGGAGGA AGCCCCGCCGCCAAGAAGAAGAAGCUGGAC UAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAA UGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUU ACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUG UAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAG AAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAA AAAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAAAAA AAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAA AAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAA AAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAACUCAAA AAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAAA AAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAGGGAA AAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACA AAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAUCG AAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAACG AAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAGA CAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGU UAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAU UUAAAAAAAAAAAAUCUAG
176	编码 Nme2Cas9 的 mRNA O	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCG GCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGG AGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGG CCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCU CCGGCGGCGGCGCCGCCUUCAAGCCCAACC

[1283]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCG
		GCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGG
		AGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGC
		UGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGC
		GGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCC
		UGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCG
		UGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACC
		GGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGC
		GGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCG
		ACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCA
		ACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCC
		UGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGU
		CCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACC
		GGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGG
		GCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCC
		UGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACG
		CCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCG
		CCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGG
		AGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCG
		ACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACC
		UGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGA
		AGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGU
		CCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCC
		UGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCG
		GCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACU
		GCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCG
		CCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCA
		UCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGA
		UCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGA
		CCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACG
		AGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACG
		CCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGG
		ACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACG
		GCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGA
		UGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCC
		GGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACA
		AGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGC
		UGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCC
		UGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCC
		GGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCC
		UGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCG
		ACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCC
		UGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGG
		GCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGA
		UCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACA
		CCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCC
		CCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGC
		UGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGA

[1284]

SEQ ID NO	说明	序列
		UCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCC
		CCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGG
		AGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGG
		AGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGG
		AAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUC
		CGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAG
		CCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGG
		CUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUG
		UACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGG
		CUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGAC
		CACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGAC
		GACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUG
		GGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAG
		ACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGAC
		AACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCC
		CGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCC
		AAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUC
		GACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUG
		AACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUG
		UGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUG
		ACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCC
		UCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGG
		GGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCC
		GAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCC
		GUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUG
		CAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUAC
		AAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACC
		AUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCAC
		CAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAG
		UUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUG
		UUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUC
		GAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGG
		ACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGG
		CCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCC
		CUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAG
		AUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGG
		UCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAG
		AAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACC
		GAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUG
		GUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAG
		CUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAG
		GCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUC
		GACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAG
		GGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUG
		GAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUG
		AACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGAC
		AACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUC
		UGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCA

[1285]

SEQ ID NO	说明	序列
		GUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCA GGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGA CUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUA CACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGA CCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUC CAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUG CGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGC CUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCA GUUCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCU GAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGG CAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAA GCGGCCCCCCGUGCGGUAGCUAGCACCAGC CUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGC UACAUAAUACCAACUUACACUUUACAAAAU GUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUC UGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACA UUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAUGGAAAA AAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAA AAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAAACAUAA AAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAA AAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAGAUAA AAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAAUGUA AAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAAACGC AAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAAUG CAAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAAU CUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAC CCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAA UAGAAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAA CUGAAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAA AUCUAG
177	编码带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的 mRNA P	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCG GCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGG AGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGG CCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCU CCGGCGGCGGCGCCGCCUUCAAGCCCAACC CCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCG GCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGG AGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGC UGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGC GGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCC UGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCG UGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACC GGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGC GGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCG ACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCA ACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCC UGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGU

[1286]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACC
		GGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGG
		GCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCC
		UGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACG
		CCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCG
		CCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGG
		AGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCG
		ACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACC
		UGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGA
		AGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGU
		CCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCC
		UGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCG
		GCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACU
		GCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCG
		CCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCA
		UCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGA
		UCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGA
		CCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACG
		AGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACG
		CCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGG
		ACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACG
		GCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGA
		UGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCC
		GGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACA
		AGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGC
		UGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCC
		UGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCC
		GGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCC
		UGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCG
		ACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCC
		UGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGG
		GCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGA
		UCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACA
		CCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCC
		CCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGC
		UGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGA
		UCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCC
		CCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGG
		AGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGG
		AGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGG
		AAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUC
		CGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAG
		CCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGG
		CUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUG
		UACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGG
		CUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGAC
		CACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGAC
		GACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUG

[1287]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAG
		ACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGAC
		AACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCC
		CGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCC
		AAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUC
		GACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUG
		AACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUG
		UGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUG
		ACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCC
		UCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGG
		GGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCC
		GAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCC
		GUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUG
		CAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUAC
		AAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACC
		AUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCAC
		CAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAG
		UUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUG
		UUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUC
		GAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGG
		ACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGG
		CCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCC
		CUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAG
		AUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGG
		UCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAG
		AAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACC
		GAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUG
		GUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAG
		CUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAG
		GCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUC
		GACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAG
		GGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUG
		GAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUG
		AACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGAC
		AACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUC
		UGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCA
		GUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCA
		GGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGA
		CUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUA
		CACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGA
		CCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUC
		CAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUG
		CGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGC
		CUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCA
		GUUCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCU
		GAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGG
		CAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAA
		GCGGCCCCCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCAC

[1288]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGUU CAAGAAGAUCUCCUAGCUAGCACCAGCCUC AAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUAC AUAAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUU GUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGC UCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUC UCUCGAGAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAA AAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAA AAAAAAUAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAA AAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAAAAA AAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAAGAUAAAA AAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAAUGUAAA AAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAACGCAA AAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAAUGCA AAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAAAUCU AAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCC AAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUA GAAAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAAAC UGAAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAA UCUAG
178	编码 Nme2Cas9 的 mRNA Q	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCG GCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGG GCGGCUCCGGCGGCGGCGCCGCCUUCAAGC CCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGG ACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCA UGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCA UCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGU UCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCG ACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCC GGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGG CCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGC UGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCG ACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCC UGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCG CCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGG AGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCA AGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGA ACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGG GCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACG CCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGA CCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCG AGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGC GGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGA AGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGU UCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCC ACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCG AGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCC

[1289]

SEQ ID NO	说明	序列
		UGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGG
		GCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCA
		AGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGC
		GGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACC
		UGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGC
		CCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGA
		UGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGA
		CCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCC
		UGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGC
		GGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCA
		CCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCA
		UCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGA
		AGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCU
		CCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCU
		UCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCA
		CCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCG
		AGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCU
		CCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGA
		AGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGG
		AGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCG
		CCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGA
		AGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCC
		CCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCG
		UGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGA
		AGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACG
		GCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCG
		CCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACC
		GGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAG
		AACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCC
		AAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUG
		GGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAG
		CUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAG
		UGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUG
		GUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGA
		GAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGAC
		CUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCU
		GGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGG
		CAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGG
		CAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUU
		CAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCC
		CCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCA
		GAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGU
		GCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACC
		GGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACA
		UCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGG
		UGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACC
		UGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGG
		UGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCC

[1290]

SEQ ID NO	说明	序列
		UGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCG
		UGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCG
		UGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACG
		GCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGG
		UGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGC
		CCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGA
		UCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGC
		CCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGA
		AGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGU
		CCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACG
		UGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCA
		ACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACA
		CCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGC
		ACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGU
		GGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGG
		AGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGG
		AGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCC
		GGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGC
		AGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCU
		ACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCG
		UGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCG
		UGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCA
		UCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGG
		ACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGC
		AAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUAC
		GCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCC
		GACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGAC
		GACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCAC
		AAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGAC
		GAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUAC
		AUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUC
		UACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAG
		GAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAAC
		CUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAAC
		GAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGG
		CUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUAGCUA
		GCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGU
		CUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUU
		UACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCA
		UUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGU
		UUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAA
		AUGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAA
		AAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAA
		AAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAA
		AAACGUAAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAA
		AAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAA
		AAAAUGUAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAA
		AAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAA

[1291]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAUCGAAAAA AAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAAACGAAAAA AAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAA AAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGUUAAAA AAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAAUUUAAA AAAAAAAAAUCUAG
179	编码 Nme2Cas9 碱基编辑器的 mRNAS	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGG CCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCG GCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGG AGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGG CCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCU CCGGCGGCGGCGAGGCCUCCCCCGCCUCCG GCCCCCGGCACCUGAUGGACCCCCACAUCU UCACCUCCAACUUCAACAACGGCAUCGGCC GGCACAAGACCUACCUGUGCUACGAGGUGG AGCGGCUGGACAACGGCACCUCCGUGAAGA UGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGCACAACC AGGCCAAGAACCUGCUGUGCGGCUUCUACG GCCGGCACGCCGAGCUGCGGUUCCUGGACC UGGUGCCCUCCCUGCAGCUGGACCCCGCCC AGAUCUACCGGGUGACCUGGUUCAUCUCCU GGUCCCCCUGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCG GCGAGGUGCGGGCCUUCCUGCAGGAGAACA CCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCC GGAUCUACGACUACGACCCCCUGUACAAGG AGGCCCUGCAGAUGCUGCGGGACGCCGGCG CCCAGGUGUCCAUCAUGACCUACGACGAGU UCAAGCACUGCUGGGACACCUUCGUGGACC ACCAGGGCUGCCCCUUCCAGCCCUGGGACG GCCUGGACGAGCACUCCCAGGCCCUGUCCG GCCGGCUGCGGGCCAUCCUGCAGAACCAGG GCAACUCCGGCUCCGAGACCCCCGGCACCU CCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGCAGCGU UCAAACCAAAUCCCAUCAACUACAUCCUGG GCCUGGCCAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCU GGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAG AACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUG CGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAG ACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGG CUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGG CGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGG CGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAG GCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUC AAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUG CGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACC CCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCAC CUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAG CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG

[1292]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCC
		AACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGAC
		UUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAAC
		AAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGG
		AACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUC
		UCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUC
		CUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGC
		AACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAG
		GGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGG
		CCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAG
		AUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCC
		GAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACC
		GCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUG
		AACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCC
		GAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCC
		ACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCC
		AAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUG
		CUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAG
		GGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAG
		GCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUAC
		CACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAG
		GGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAAC
		CUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGC
		ACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAG
		GACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUG
		CAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAG
		CACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUC
		UCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCC
		CUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAG
		GCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUAC
		GGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUAC
		CUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGG
		AACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAG
		GCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGG
		CGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUC
		GAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUC
		AAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCA
		GGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGG
		CCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCA
		ACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACA
		UCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGC
		ACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGA
		UCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCU
		ACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCU
		CCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACA
		AGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGA
		ACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACU
		UCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGC

[1293]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCC
		GGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCC
		UGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCA
		AGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACG
		UGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCG
		ACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGC
		GGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCA
		CCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGC
		GGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACC
		ACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCU
		CCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCC
		GGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCU
		UCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCG
		GCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCC
		CCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGG
		UGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACG
		GCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCC
		CCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGA
		AGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACG
		AGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGG
		CCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACA
		AGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCG
		UGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGC
		GGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCG
		ACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACG
		GCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGA
		AGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACG
		CCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACC
		CCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGA
		AGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGU
		CCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCU
		ACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGC
		GGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAG
		AAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCC
		AUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUC
		CUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGG
		AUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCC
		CUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAG
		AAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCC
		UACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGC
		CGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGC
		UCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACC
		CAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAG
		GUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCC
		UGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGG
		UAGUGACUAGCACCAGCCUCAAGAACACCC
		GAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAA
		CUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAA

[1294]

SEQ ID NO	说明	序列
		AUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAA AAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAA AAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAA AAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAA AAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAACGAAA AAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAACUCAA AAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAA AAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAGGGA AAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACA AAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAUCG AAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAACG AAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAGA CAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGU UAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAU UUAAAAAAAAAAAAUCUAG
180	由 mRNA C 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框	atgaccggtgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcct ggacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacga ggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcga gcgggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggc ggctggcccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccg gctgctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcagg ccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacacccc ctggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgacccccctgg agtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcc cagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccc tgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgact tccggacccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccg gccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaa ggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttc ggcaaccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccct gctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagat gctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaaga acacctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacct gcggatcctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagc gggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacg cccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagg gcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggaga tgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctga aggacaagaagtccccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagat cggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccgg ctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcac atctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatc gtgcccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccga gatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatcta cctgccccccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcg ggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggta cggctcccccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggca agtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaac

[1295]

SEQ ID NO	说明	序列
		cggaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccc caacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctg tacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaac ctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctg cccttctcccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgct gggctccgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtactt caacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccggg tggagacctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgca gaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccg gtacgtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgac cggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaa cctgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacga ccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggc catgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgc cttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcacca gaagacccacttccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatg atccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggcc gacacccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcc cggcccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccggg cccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccg ccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtg gctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaa gaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctgg aggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaac cccttctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggag aagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacacc atcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtgg acaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggca ggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggat cgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgc cttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaact gcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctc caaggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccag aagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctg aagaagcggccccccgtgcggtccggaaagcggaccgccgacggctc cgagttcgagtccccaagaagaagcggaaggtggagtag
181	由 mRNA H 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACT ACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTC CGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAG GAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGG GCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGC CCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCG GCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACC CGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCC CGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTG CAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTG ATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGC TGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGA

[1296]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCA CCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAG CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG GAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCC AACAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGAC TTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACA AGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGA ACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTC CCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTG CTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAAC CCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGC ATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCG CCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCT GGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCC AAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAG CGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACC TGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCC CCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATG GACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCT ACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGG AGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTA CGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCT GATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCC CGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGAC AAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGC TGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCT GTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCG GCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTG GAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACA AGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCG GCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAG CGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACG GCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGG AGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGA CGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCC CTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCG TGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGAT CCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAA GTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAA GCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGA GAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTC CCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGG ACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCA GCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAG ATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCT ACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTC CCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAG GTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAAC

[1297]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCA ACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGG AGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTT CCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTG CAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAG TGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACC GGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACAT CCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGT GTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTG CTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGC GGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGG ACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGC CATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGG TACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGA CCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGC ACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGA GTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTG TTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCG AGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGA CCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCC CGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTG TTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGT CCGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGC CAAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGAT CTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATC AAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACT ACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACG AGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACG GCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCA AGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCC AGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGA CCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGA AGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGA CATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTG GACAAGTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAG AAGCGGAAGGTGTCCGGCGGCTCCGGCAAG AACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTG GCAGGTGGCCGAGAACATCCTGCCCGACATC GACTGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCCT ACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGA CCTGATCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAGTCC AAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCG ACTCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTG GCACGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTT CCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATC CAGAAGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAG GAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGG CCCCCCGTGCGGTAG

[1298]

SEQ ID NO	说明	序列
182	由 mRNA I 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框	ATGGTGCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGCC GCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCT GGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGC TGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAG AACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGC GGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGA CCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCT GGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCG GCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCG GCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGC CGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAG TCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGG CCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCT GGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATC AAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAG AACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTG GGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACAAC GCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGA CCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGA GAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCG GGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAG GACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTCG AGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACG TGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGA CCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTC CGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCA CTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCC GCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTCA TCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGAT CCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACC GACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAG CCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCC AGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACA CCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAA GGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAG ATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCC TGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGT CCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGA CGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAG ACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAG GACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCC TGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGT GCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATC GTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACG ACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCA CTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAT CTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCC GGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCCA

[1299]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCG
		GCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATC
		GAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTC
		AAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAG
		GAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCC
		GCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAACT
		TCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCT
		GAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGG
		CAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAAC
		CTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTG
		GAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGA
		CCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCT
		GGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGG
		CAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGC
		AAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTC
		AAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCC
		GGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA
		AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCA
		ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT
		CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTG
		CTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTC
		GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC
		GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG
		CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG
		CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT
		GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC
		AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC
		ATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCAC
		CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT
		TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT
		CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA
		GGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGAC
		CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC
		GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT
		TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC
		CGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCC
		AAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATC
		TCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCA
		AGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTA
		CAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGA
		GGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGC
		GGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAG
		GACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGC
		TGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCC
		AGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGA
		ACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACAT
		GGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGAC
		AAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGC

[1300]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACAT CCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGG ATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCT GCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAG GACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACT ACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTT CTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAG GAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACC TGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGA GCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTG AAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGTACCCCTACG ACGTGCCCGACTACGCCGCCGCCCCCGCCGC CAAGAAGAAGAAGCTGGACTAG
183	由 mRNA J 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACT ACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTC CGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAG GAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGG GCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGC CCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCG GCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACC CGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCC CGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTG CAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTG ATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGC TGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGA CCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCA CCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAG CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG GAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCC AACAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGAC TTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACA AGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGA ACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTC CCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTG CTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAAC CCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGC ATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCG CCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCT GGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCC AAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAG CGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACC TGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCC CCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATG GACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCT ACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGG AGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTA CGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCT GATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCC

[1301]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGAC AAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGC TGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCT GTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCG GCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTG GAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACA AGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCG GCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAG CGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACG GCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGG AGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGA CGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCC CTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCG TGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGAT CCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAA GTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAA GCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGA GAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTC CCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGG ACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCA GCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAG ATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCT ACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTC CCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAG GTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAAC AAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCA ACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGG AGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTT CCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTG CAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAG TGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACC GGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACAT CCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGT GTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTG CTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGC GGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGG ACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGC CATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGG TACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGA CCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGC ACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGA GTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTG TTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCG AGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGA CCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCC CGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTG TTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGT CCGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGC

[1302]

SEQ ID NO	说明	序列
		CAAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGAT CTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATC AAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACT ACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACG AGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACG GCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCA AGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCC AGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGA CCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGA AGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGA CATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTG GACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCG TGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAA CATCCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTAC CGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTC CCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAG AAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCC TACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCC GGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTC CAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAG AACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGA ACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCC GGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGG
184	由 mRNA K 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框	atggccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacat cggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggagga gaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggc cgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctgg cccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctg cgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccg acttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacacccctggca gctgcgggccgccgccctggaccggaagctgacccccctggagtggtc cgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcgg aagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaa gggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccgga cccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccaca tccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacct gcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaac ccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatg acccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctggg ccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacaccta caccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatc ctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcgggccac cctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggc ccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcg gtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggc ctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaa gaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcacc gccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaagg

[1303]

SEQ ID NO	说明	序列
		accgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctcctt cgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccc ctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctac ggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccc cccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctg tcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcc cccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttc aaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaag gaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttc gtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgag cagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtg cggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttct cccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctc cgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacgg caaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggaga cctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagtt cgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgt gaaccggttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggca agggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgc tgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccgg caccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgc agcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcga cggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaaga cccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgg gtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacac ccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcc cgaggccgtgcacgagtacgtgaccccccctgttcgtgtcccgggccccc aaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaa gcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctg accgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaac ggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggc ctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccctt ctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaaga cccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcg ccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggaca agaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggt ggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcga cgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttc cagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcg actcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaa ggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaag taccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaag aagcggccccccgtgcgg
185	由 mRNA L 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框	atgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAA GAAGCGGAAGGTGGGCGGCTCCGGCGGCGG Cgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatc ggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggag aaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggcc

[1304]

SEQ ID NO	说明	序列
		gaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggc ccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgc gggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccga cttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacacccccctggcag ctgcgggccgccgccctggaccggaagctgacccccctggagtggtcc gccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcgga agaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaa gggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccgga cccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccaca tccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacct gcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaac ccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatg acccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctggg ccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacaccta caccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatc ctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcgggccac cctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggc ccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcg gtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggc ctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaa gaagtccccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcacc gccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaagg accgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctcctt cgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccc ctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctac ggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccc cccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctg tcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcc cccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttc aaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaag gaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttc gtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgag cagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtg cggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttct cccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctc cgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacgg caaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggaga cctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagtt cgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgt gaaccggttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggca agggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgc tgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccgg caccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgc agcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcga cggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaaga cccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgg gtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacac ccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcc

[1305]

SEQ ID NO	说明	序列
		cgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggccccc aaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaa gcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctg accgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaac ggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggc ctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccctt ctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaaga cccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcg ccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggaca agaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggt ggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcga cgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttc cagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcg actcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaa ggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaag taccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaag aagcggccccccgtgcggtag
186	由 mRNA M 编码的带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的开放阅读框	ATGGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGA AGAAGCGGAAGGTGGGCGGCTCCGGCGGCG GCGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTA CATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCC GTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGG AGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGG CGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCC AAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGC GGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCG GCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCG GCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCA GGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATC AAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGC GGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCC CCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCT GATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGG AAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAG CTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAAC AACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCC GGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTT CGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCA GCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGG AAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGT TCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCC ACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCG AGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCT GTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGC CACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTT CATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGG ATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGA

[1306]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACG AGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGC CCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGA CACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGC AAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGG AGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGC CCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAA GTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAG GACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCA AGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGA AGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGG CCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTT CGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGG ATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGT ACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGA CCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAA GATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAG ATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGT CCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGT GCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCAC ATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCT TCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGC AGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAG GCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCA ACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACAT CCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCAC GGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCA ACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT GGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGG ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGC TGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGG GCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGG CAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTT CAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCC CGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCA ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTG CTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTC GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC ATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCAC CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT

[1307]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA GGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGAC CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC CGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCC AAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATC TCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCA AGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTA CAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGA GGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGC GGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAG GACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGC TGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCC AGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGA ACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACAT GGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGAC AAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGC CCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACAT CCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGG ATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCT GCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAG GACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACT ACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTT CTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAG GAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACC TGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGA GCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTG AAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGTCCGAGTCC GCCACCCCCGAGTCCGTGTCCGGCTGGCGGC TGTTCAAGAAGATCTCCTAG
187	由 mRNA N 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框	atgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAA GAAGCGGAAGGTGGGCGGCTCCGGCGGCGG Cgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatc ggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggag aaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggcc gaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggc ccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgc gggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccga cttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacacccctggcag ctgcgggccgccgccctggaccggaagctgacccccctggagtggtcc gccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcgga agaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaa gggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccgga cccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccaca tccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacct gcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaac ccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatg

[1308]

SEQ ID NO	说明	序列
		acccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctggg ccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacaccta caccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatc ctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcgggccac cctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggc ccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcg gtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggc ctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaa gaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcacc gccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaagg accgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctcctt cgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccc ctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctac ggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccc cccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctg tcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcc cccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttc aaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaag gaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttc gtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgag cagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtg cggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttct cccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctc cgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacgg caaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggaga cctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagtt cgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgt gaaccggttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggca agggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgc tgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccgg caccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgc agcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcga cggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaaga cccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgg gtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacac ccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcc cgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggccccc aaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaa gcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctg accgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaac ggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggc ctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccctt ctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaaga cccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcg ccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggaca agaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggt ggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcga cgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttc

[1309]

SEQ ID NO	说明	序列
		cagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcg actcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaa ggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaag taccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaag aagcggcccccgtgcggTCCGGAAAGCGGACCGCC GACGGCTCCGGAGGAGGAAGCCCCGCCGCC AAGAAGAAGAAGCTGGACtag
188	由 mRNA O 编码的 Nme2Cas9 的开放阅读框	atgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAA GAAGCGGAAGGTGGAGGACAAGCGGCCCGC CGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAA GAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCgccgccttc aagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcatcgcctc cgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatcc ggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgccca agaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgc ggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcg gctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgaga acggcctgatcaagtccctgcccaacacccccctggcagctgcgggccg ccgccctggaccggaagctgacccccctggagtggtccgccgtgctgct gcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgaggg cgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggcca acaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggaccccgccgag ctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccag cggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgag ctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaaccccacgtgtc cggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggc ccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcacctt cgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagc ggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcaggg ctccgagcggcccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatggacg agccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgc tgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcggtacggcaagg acaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgcca tctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtcccccc tgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctg ttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgca gcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcg tgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgcccctgatggagca gggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccact acggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccccccatccccg ccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggccc ggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcccccgcccgg atccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccgg aaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggag aaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagc ccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacg gcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacga gaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctcccggacctgg

[1310]

SEQ ID NO	说明	序列
		gacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccaga acaagggcaaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaact cccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcccggttcc cccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacg gcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgtgaaccggttcct gtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcg gcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttct ggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccct ggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagat cacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagac catcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttccc ccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggca agcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacacccccgagaa gctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgt gcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaag atgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtg aagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatc aagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggga gatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggcctacggcg gcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccccttctacaaga agggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagacccagga gtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaa cggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaaggg caagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtggccgag aacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcct acaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttccagaagg acgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctcc aacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcag cagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggt gaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggc cccccgtgcggtag
189	由 mRNA P 编码的带有 HiBiT 标签的 Nme2Cas9 的开放阅读框	atgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAA GAAGCGGAAGGTGGAGGACAAGCGGCCCGC CGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAA GAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCGCCGC CTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCTGG GCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTG GGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAA CCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGG GTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACC GGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGG CCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCG GGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCGGCTG CTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCC GACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCC TGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGC CGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAG TGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGC

[1311]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACG
		AGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCG
		CCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACAACGCCC
		ACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCC
		CGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAA
		GGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGG
		CGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAGGAC
		CTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTCGAGA
		AGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGT
		CCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCC
		TGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGG
		CGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGC
		ACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCA
		AGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTG
		GCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTG
		GAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACCGAC
		ACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCT
		ACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGC
		CCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGC
		CTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGAC
		AACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGA
		AGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGA
		GAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCC
		CCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGACGAG
		ATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCG
		ACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACC
		GGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCT
		GAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTGCAG
		ATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGC
		CCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACG
		AGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTA
		CGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTA
		CCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGG
		AACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCCAGG
		CCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGC
		GGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGA
		GACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAA
		GGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGA
		GGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGC
		CGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAACTTC
		GTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGA
		AGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCA
		AGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCT
		GGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGA
		GATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACC
		TGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGG
		TGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCA
		ACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAA

[1312]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAA GGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGG TCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGT TCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAACC TGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCCT GTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTG ACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTCGCC TCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGG GCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCG AGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCG TGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCA GCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAG GAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCG ACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGA AGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTT CGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCGGC AAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAG GCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGACCCTG CTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGG CCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGT GTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGC GCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAG CGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCCG TGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCT GGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTACAAG AACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCC TGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCA ACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACA ACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGT GAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGA GTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGC CTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTG CGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAG AAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCA TCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCT GCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGGATC GACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCA CAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAGGAC GAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACA TCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTA CCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGA GCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTG GTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGC TGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAA GAAGCGGCCCCCCGTGCGGTCCGAGTCCGCC ACCCCCGAGTCCGTGTCCGGCTGGCGGCTGT TCAAGAAGATCTCCTAG
190	由 mRNA Q 编码的	atgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCGAGGACA

[1313]

SEQ ID NO	说明	序列
	Nme2Cas9 的开放阅读框	AGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCC AGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCTCCGGCG GCGGCgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctg gacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgag gaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgag cgggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcg gctggcccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggc tgctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggcc gccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacacccct ggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgacccccctggag tggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtccca gcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctg ctgaagggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttc cggacccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggc cacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaag gacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcg gcaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgc tgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgc tgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaaca cctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcg gatcctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcggg ccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgccca ggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcct gcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaa ggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaagg acaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcgg caccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctg aaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatc tccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgt gcccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgaga tctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacc tgcccccccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcggg ccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacg gctcccccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagt ccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccg gaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaa cttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtac gagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctg gtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgccc ttctcccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctggg ctccgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaa cggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtgg agacctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaa gttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggta cgtgaaccggttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccg gcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacc tgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgacc ggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccat

SEQ ID NO	说明	序列
		gcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttc gacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaa gacccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatcc gggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgac acccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccgg cccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggccc ccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgcca agcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggct gaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaa cggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggagg cctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccct tctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaag acccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatc gccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggac aagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcagg tggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcga cgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttc cagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcg actcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaa ggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaag taccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaag aagcggccccccgtgcggtag
191	Nme1Cas9 裂解酶的示例性氨基酸序列	MAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEE NPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLAR SVRRLTRRRAHRLLRTRRLLKREGVLQAANFD ENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV AGNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRN QRSDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHV SGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCT FEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQG SERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLG LEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAIS RALEKEGLKDKKSPLNLSPELQDEIGTAFSLFK TDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKFVQISL KALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKK NTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVING VVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQ EENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILK LRLYEQQHGKCLYSGKEINLGRLNEKGYVEID HALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTP YEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQR ILLQKFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVAD RMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGLRK VRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFV RYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQPW EFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTLEKLRTL LAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGQ

[1314]

[1315]

SEQ ID NO	说明	序列
		GHMETVKSAKRLDEGVSVLRVPLTQLKLKDLE KMVNREREPKLYEALKARLEAHKDDPAKAFA EPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGVW VRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYYLVPIYS WQVAKGILPDRAVVQGKDEEDWQLIDDSFNFK FSLHPNDLVEVITKKARMFGYFASCHRGTGNIN IRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKTALSFQKYQIDE LGKEIRPCRLKKRPPVR
192	编码 Nme1Cas9 裂解酶的示例性编码序列	GCTGCTTTTAAGCCTAATTCTATTAATTATATT CTTGGTCTTGATATTGGTATTGCTTCTGTTGGT TGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGGAGA ATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTCGTG TTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGACTGG TGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTGCTC GTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGTGCT CATCGTCTTCTTCGTACTCGTCGTCTTCTTAA GCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTAATTTTG ATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCCTAATA CTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTCTTGAT CGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCTGCTGT TCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGTTATCT TTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGACTGCT GATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAGGGTG TTGCTGGTAATGCTCATGCTCTTCAGACTGGT GATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTCTTAA TAAGTTTGAGAAGGAGTCTGGTCATATTCGTA ATCAGCGTTCTGATTATTCTCATACTTTTTCTC GTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTATTCTTCTT TTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAATCCTC ATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTATTGAG ACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTCTTTC TGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGTCATT GTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGCTGC TAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTATTTG GCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCTTGA GCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATACTG AGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTATCGT AAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCGTAA GCTTCTTGGTCTTGAGGATACTGCTTTTTTTA AGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCTGAG GCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTATCA TGCTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGGGTC TTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTTTCT CCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGCTTT TTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTACTG GTCGTCTTAAGGATCGTATTCAGCCTGAGATT CTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTTGAT AAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCTTCG

[1316]

SEQ ID NO	说明	序列
		TCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTAAGC GTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTATGGT GATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGGAGA AGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATGAGA TTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTTCTC AGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTTCGT CGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATTGAG ACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTAAGG ATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGAGGA GAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCTGCT AAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTTGG TGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCTTC GTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTCTT TATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGGTCGTCT TAATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATCATG CTCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCTT TTAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGAG AATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATGA GTATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAGT GGCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTTC TCGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATTC TTCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAAG GAGCGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTAAT CGTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCGTATG CGTCTTACTGGTAAGGGTAAGAAGCGTGTTT TTGCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCTTC GTGGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTGCT GAGAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCTGT TGTTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCAGC AGAAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGGAG ATGAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGATAA GGAGACTGGTGAGGTTCTTCATCAGAAGACT CATTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCTCA GGAGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCCTG ATGGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGATAC TCTTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGAGA AGCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATGAG TATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTCCT AATCGTAAGATGTCTGGTCAGGGTCATATGGA GACTGTTAAGTCTGCTAAGCGTCTTGATGAG GGTGTTTCTGTTCTTCGTGTTCCTCTTACTCA GCTTAAGCTTAAGGATCTTGAGAAGATGGTTA ATCGTGAGCGTGAGCCTAAGCTTTATGAGGC TCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCTCATAAGGATG ATCCTGCTAAGGCTTTTGCTGAGCCTTTTTAT AAGTATGATAAGGCTGGTAATCGTACTCAGCA GGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGCAGGTTCAG AAGACTGGTGTTTGGGTTCGTAATCATAATGG

[1317]

SEQ ID NO	说明	序列
		TATTGCTGATAATGCTACTATGGTTCGTGTTGA TGTTTTTGAGAAGGGTGATAAGTATTATCTTG TTCCTATTTATTCTTGGCAGGTTGCTAAGGGT ATTCTTCCTGATCGTGCTGTTGTTCAGGGTAA GGATGAGGAGGATTGGCAGCTTATTGATGATT CTTTTAATTTTAAGTTTTCTCTTCATCCTAATG ATCTTGTTGAGGTTATTACTAAGAAGGCTCGT ATGTTTGGTTATTTTGCTTCTTGTCATCGTGGT ACTGGTAATATTAATATTCGTATTCATGATCTT GATCATAAGATTGGTAAGAATGGTATTCTTGA GGGTATTGGTGTTAAGACTGCTCTTTCTTTTC AGAAGTATCAGATTGATGAGCTTGGTAAGGA GATTCGTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGTCCTC CTGTTCGT
193	编码 Nme1Cas9 裂解酶的示例性编码序列	GCCGCCTTCAAGCCCAACTCCATCAACTACAT CCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTG GGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAG GAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCG TGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCA AGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCG GCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGG CGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGACCCGG CGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAG GCCGCCAACTTCGACGAGAACGGCCTGATCA AGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCG GGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCC CTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGA TCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAA GAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCT GGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCGGCAA CGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGG ACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCG AGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGC GGTCCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAA GGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTC GAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCAC GTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAG ACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGT CCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCC ACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGC CGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTC ATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGA TCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGAC CGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGA GCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCC CAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGAC ACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCA AGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGA

[1318]

SEQ ID NO	说明	序列
		GATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCC CTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAG TCCCCCCTGAACCTGTCCCCCGAGCTGCAGG ACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAA GACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAA GGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTGGAGGCC CTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCG TGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGAT CGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTAC GACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACC ACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGA TCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATC CGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCC AGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGC GGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACAT CGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTT CAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCA GGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGG CCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAA CTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATC CTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACG GCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAA CCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT GGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGG ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGC TGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGG GCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGG CAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTT CAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCC CGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGCGGA ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGGATGCGG CTGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGTGTTC GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC ATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCTGCAC CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA GGAGGCCGACACCCTGGAGAAGCTGCGGAC CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC

[1319]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGGCCAGGGCCACATGGAGACCGTGAAGTC CGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGTCCGT GCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAGCTG AAGGACCTGGAGAAGATGGTGAACCGGGAG CGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTGAAG GCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGACCCC GCCAAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACAAGT ACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGG TGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGCAGA AGACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACAACG GCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCGGGT GGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTACTAC CTGGTGCCCATCTACTCCTGGCAGGTGGCCA AGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGTGCA GGGCAAGGACGAGGAGGACTGGCAGCTGAT CGACGACTCCTTCAACTTCAAGTTCTCCCTG CACCCCAACGACCTGGTGGAGGTGATCACCA AGAAGGCCCGGATGTTCGGCTACTTCGCCTC CTGCCACCGGGGCACCGGCAACATCAACATC CGGATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGCA AGAACGGCATCCTGGAGGGCATCGGCGTGAA GACCGCCCTGTCCTTCCAGAAGTACCAGATC GACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGC CGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGG
194	编码 Nme1Cas9 裂解酶的示例性编码序列	GCAGCATTCAAACCAAACTCAATCAACTACA TCCTAGGACTAGACATCGGAATCGCATCAGTA GGATGAGCAATGGTAGAAATCGACGAAGAAG AAAACCCAATCCGACTAATCGACCTAGGAGT ACGAGTATTCGAACGAGCAGAAGTACCAAAA ACAGGAGACTCACTAGCAATGGCACGACGAC TAGCACGATCAGTACGACGACTAACACGACG ACGAGCACACCGACTACTACGAACACGACG ACTACTAAAACGAGAAGGAGTACTACAAGCA GCAAACTTCGACGAAAACGGACTAATCAAAT CACTACCAAACACACCATGACAACTACGAGC AGCAGCACTAGACCGAAAACTAACACCACTA GAATGATCAGCAGTACTACTACACCTAATCAA ACACCGAGGATACCTATCACAACGAAAAAAC GAAGGAGAAACAGCAGACAAAGAACTAGGA GCACTACTAAAAGGAGTAGCAGGAAACGCA CACGCACTACAAACAGGAGACTTCCGAACAC CAGCAGAACTAGCACTAAACAAATTCGAAAA AGAATCAGGACACATCCGAAACCAACGATCA GACTACTCACACACATTCTCACGAAAAGACC TACAAGCAGAACTAATCCTACTATTCGAAAA ACAAAAAGAATTCGGAAACCCACACGTATCA GGAGGACTAAAAGAAGGAATCGAAACACTA CTAATGACACAACGACCAGCACTATCAGGAG

[1320]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACGCAGTACAAAAAATGCTAGGACACTGCAC ATTCGAACCAGCAGAACCAAAAGCAGCAAA AAACACATACACAGCAGAACGATTCATCTGA CTAACAAAACTAAACAACCTACGAATCCTAG AACAAGGATCAGAACGACCACTAACAGACA CAGAACGAGCAACACTAATGGACGAACCATA CCGAAAATCAAAACTAACATACGCACAAGCA CGAAAACTACTAGGACTAGAAGACACAGCAT TCTTCAAAGGACTACGATACGGAAAAGACAA CGCAGAAGCATCAACACTAATGGAAATGAAA GCATACCACGCAATCTCACGAGCACTAGAAA AAGAAGGACTAAAAGACAAAAAATCACCAC TAAACCTATCACCAGAACTACAAGACGAAAT CGGAACAGCATTCTCACTATTCAAAACAGAC GAAGACATCACAGGACGACTAAAAGACCGA ATCCAACCAGAAATCCTAGAAGCACTACTAA AACACATCTCATTCGACAAATTCGTACAAATC TCACTAAAAGCACTACGACGAATCGTACCAC TAATGGAACAAGGAAAACGATACGACGAAG CATGCGCAGAAATCTACGGAGACCACTACGG AAAAAAAAACACAGAAGAAAAAATCTACCT ACCACCAATCCCAGCAGACGAAATCCGAAAC CCAGTAGTACTACGAGCACTATCACAAGCAC GAAAAGTAATCAACGGAGTAGTACGACGATA CGGATCACCAGCACGAATCCACATCGAAACA GCACGAGAAGTAGGAAAATCATTCAAAGACC GAAAAGAAATCGAAAAACGACAAGAAGAAA ACCGAAAAGACCGAGAAAAAGCAGCAGCAA AATTCCGAGAATACTTCCCAAACTTCGTAGG AGAACCAAAATCAAAAGACATCCTAAAACTA CGACTATACGAACAACAACACGGAAAATGCC TATACTCAGGAAAAGAAATCAACCTAGGACG ACTAAACGAAAAAGGATACGTAGAAATCGAC CACGCACTACCATTCTCACGAACATGAGACG ACTCATTCAACAACAAAGTACTAGTACTAGG ATCAGAAAACCAAAACAAAGGAAACCAAAC ACCATACGAATACTTCAACGGAAAAGACAAC TCACGAGAATGACAAGAATTCAAAGCACGA GTAGAAACATCACGATTCCCACGATCAAAAA AACAACGAATCCTACTACAAAAATTCGACGA AGACGGATTCAAAGAACGAAACCTAAACGA CACACGATACGTAAACCGATTCCTATGCCAAT TCGTAGCAGACCGAATGCGACTAACAGGAAA AGGAAAAAAACGAGTATTCGCATCAAACGGA CAAATCACAAACCTACTACGAGGATTCTGAG GACTACGAAAAGTACGAGCAGAAAACGACC GACACCACGCACTAGACGCAGTAGTAGTAGC ATGCTCAACAGTAGCAATGCAACAAAAAATC

[1321]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACACGATTCGTACGATACAAAGAAATGAACG CATTCGACGGAAAAACAATCGACAAAGAAA CAGGAGAAGTACTACACCAAAAAACACACTT CCCACAACCATGAGAATTCTTCGCACAAGAA GTAATGATCCGAGTATTCGGAAAACCAGACG GAAAACCAGAATTCGAAGAAGCAGACACAC TAGAAAAACTACGAACACTACTAGCAGAAAA ACTATCATCACGACCAGAAGCAGTACACGAA TACGTAACACCACTATTCGTATCACGAGCACC AAACCGAAAAATGTCAGGACAAGGACACAT GGAAACAGTAAAATCAGCAAAACGACTAGA CGAAGGAGTATCAGTACTACGAGTACCACTA ACACAACTAAAACTAAAAGACCTAGAAAAA ATGGTAAACCGAGAACGAGAACCAAAACTAT ACGAAGCACTAAAAGCACGACTAGAAGCAC ACAAAGACGACCCAGCAAAAGCATTCGCAG AACCATTCTACAAATACGACAAAGCAGGAAA CCGAACACAACAAGTAAAAGCAGTACGAGT AGAACAAGTACAAAAAACAGGAGTATGAGT ACGAAACCACAACGGAATCGCAGACAACGC AACAATGGTACGAGTAGACGTATTCGAAAAA GGAGACAAATACTACCTAGTACCAATCTACTC ATGACAAGTAGCAAAAGGAATCCTACCAGAC CGAGCAGTAGTACAAGGAAAAGACGAAGAA GACTGACAACTAATCGACGACTCATTCAACT TCAAATTCTCACTACACCCAAACGACCTAGTA GAAGTAATCACAAAAAAAGCACGAATGTTCG GATACTTCGCATCATGCCACCGAGGAACAGG AAACATCAACATCCGAATCCACGACCTAGAC CACAAAATCGGAAAAAACGGAATCCTAGAA GGAATCGGAGTAAAAACAGCACTATCATTCC AAAAATACCAAATCGACGAACTAGGAAAAG AAATCCGACCATGCCGACTAAAAAAACGACC ACCAGTACGA
195	Nme1Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框	ATGGCTGCTTTTAAGCCTAATTCTATTAATTAT ATTCTTGGTCTTGATATTGGTATTGCTTCTGTT GGTTGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGG AGAATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTC GTGTTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGAC TGGTGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTG CTCGTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGT GCTCATCGTCTTCTTCGTACTCGTCGTCTTCTT AAGCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTAATT TTGATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCCT AATACTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTCT TGATCGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCTG CTGTTCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGTT ATCTTTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGAC

[1322]

SEQ ID NO	说明	序列
		TGCTGATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAGG GTGTTGCTGGTAATGCTCATGCTCTTCAGACT GGTGATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTCT TAATAAGTTTGAGAAGGAGTCTGGTCATATTC GTAATCAGCGTTCTGATTATTCTCATACTTTTT CTCGTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTATTCTT CTTTTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAATC CTCATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTATT GAGACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTCT TTCTGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGTC ATTGTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGCT GCTAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTATT TGGCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCTT GAGCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATA CTGAGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTAT CGTAAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCG TAAGCTTCTTGGTCTTGAGGATACTGCTTTTT TTAAGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCT GAGGCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTA TCATGCTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGG GTCTTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTT TCTCCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGC TTTTTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTAC TGGTCGTCTTAAGGATCGTATTCAGCCTGAGA TTCTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTTG ATAAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCTT CGTCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTAA GCGTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTATG GTGATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGGA GAAGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATGA GATTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTTC TCAGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTTC GTCGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATTG AGACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTAA GGATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGAG GAGAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCTG CTAAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTTG GTGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCTT CGTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTCT TTATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGGTCGTC TTAATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATCAT GCTCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCT TTTAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGA GAATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATG AGTATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAG TGGCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTT CTCGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATT CTTCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAA

[1323]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGAGCGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTA ATCGTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCGTA TGCGTCTTACTGGTAAGGGTAAGAAGCGTGT TTTTGCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCT TCGTGGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTG CTGAGAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCT GTTGTTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCA GCAGAAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGG AGATGAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGAT AAGGAGACTGGTGAGGTTCTTCATCAGAAGA CTCATTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCT CAGGAGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCC TGATGGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGAT ACTCTTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGA GAAGCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATG AGTATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTC CTAATCGTAAGATGTCTGGTCAGGGTCATATG GAGACTGTTAAGTCTGCTAAGCGTCTTGATG AGGGTGTTTCTGTTCTTCGTGTTCCTCTTACT CAGCTTAAGCTTAAGGATCTTGAGAAGATGG TTAATCGTGAGCGTGAGCCTAAGCTTTATGAG GCTCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCTCATAAGG ATGATCCTGCTAAGGCTTTTGCTGAGCCTTTT TATAAGTATGATAAGGCTGGTAATCGTACTCA GCAGGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGCAGGTT CAGAAGACTGGTGTTTGGGTTCGTAATCATA ATGGTATTGCTGATAATGCTACTATGGTTCGTG TTGATGTTTTTGAGAAGGGTGATAAGTATTAT CTTGTTCCTATTTATTCTTGGCAGGTTGCTAAG GGTATTCTTCCTGATCGTGCTGTTGTTCAGGG TAAGGATGAGGAGGATTGGCAGCTTATTGAT GATTCTTTTAATTTTAAGTTTTCTCTTCATCCT AATGATCTTGTTGAGGTTATTACTAAGAAGGC TCGTATGTTTGGTTATTTTGCTTCTTGTCATCG TGGTACTGGTAATATTAATATTCGTATTCATGA TCTTGATCATAAGATTGGTAAGAATGGTATTC TTGAGGGTATTGGTGTTAAGACTGCTCTTTCT TTTCAGAAGTATCAGATTGATGAGCTTGGTAA GGAGATTCGTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGT CCTCCTGTTCGTUGA
196	Nme1Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACTCCATCAACT ACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTC CGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAG GAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGG GCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGC CCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCG GCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACC CGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGACC

[1324]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTG CAGGCCGCCAACTTCGACGAGAACGGCCTG ATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGC TGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGA CCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCA CCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAG CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG GAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCC GGCAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGAC TTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACA AGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGA ACCAGCGGTCCGACTACTCCCACACCTTCTC CCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTG CTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAAC CCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGC ATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCG CCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCT GGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCC AAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAG CGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACC TGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCC CCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATG GACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCT ACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGG AGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTA CGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCT GATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCC CGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGAC AAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCCCCGAGC TGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCT GTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCG GCTGAAGGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTG GAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACA AGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCG GCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAG CGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACG GCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGG AGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGA CGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCC CTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCG TGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGAT CCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAA GTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAA GCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGA GAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTC CCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGG ACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCA GCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAG

[1325]

SEQ ID NO	说明	序列
		ATCAACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGC TACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCT CCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAA GGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAA CAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTC AACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAG GAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGT TCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCT GCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGA GCGGAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAA CCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGG ATGCGGCTGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGG GTGTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACC TGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGT GCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCT GGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTG GCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGC GGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAA GACCATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCT GCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGG GAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGG TGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTT CGAGGAGGCCGACACCCTGGAGAAGCTGCG GACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGG CCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCC TGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAT GTCCGGCCAGGGCCACATGGAGACCGTGAA GTCCGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGTC CGTGCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAG CTGAAGGACCTGGAGAAGATGGTGAACCGG GAGCGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTG AAGGCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGAC CCCGCCAAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACA AGTACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGC AGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGC AGAAGACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACA ACGGCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCG GGTGGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTA CTACCTGGTGCCCATCTACTCCTGGCAGGTGG CCAAGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGT GCAGGGCAAGGACGAGGAGGACTGGCAGCT GATCGACGACTCCTTCAACTTCAAGTTCTCCC TGCACCCCAACGACCTGGTGGAGGTGATCAC CAAGAAGGCCCGGATGTTCGGCTACTTCGCC TCCTGCCACCGGGGCACCGGCAACATCAACA TCCGGATCCACGACCTGGACCACAAGATCGG CAAGAACGGCATCCTGGAGGGCATCGGCGTG AAGACCGCCCTGTCCTTCCAGAAGTACCAGA

[1326]

SEQ ID NO	说明	序列
		TCGACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTG CCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGUG A
197	Nme1Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框	ATGGCAGCATTCAAACCAAACTCAATCAACT ACATCCTAGGACTAGACATCGGAATCGCATCA GTAGGATGAGCAATGGTAGAAATCGACGAAG AAGAAAACCCAATCCGACTAATCGACCTAGG AGTACGAGTATTCGAACGAGCAGAAGTACCA AAAACAGGAGACTCACTAGCAATGGCACGA CGACTAGCACGATCAGTACGACGACTAACAC GACGACGAGCACACCGACTACTACGAACAC GACGACTACTAAAACGAGAAGGAGTACTACA AGCAGCAAACTTCGACGAAAACGGACTAATC AAATCACTACCAAACACACCATGACAACTAC GAGCAGCAGCACTAGACCGAAAACTAACAC CACTAGAATGATCAGCAGTACTACTACACCTA ATCAAACACCGAGGATACCTATCACAACGAA AAAACGAAGGAGAAACAGCAGACAAAGAA CTAGGAGCACTACTAAAAGGAGTAGCAGGAA ACGCACACGCACTACAAACAGGAGACTTCCG AACACCAGCAGAACTAGCACTAAACAAATTC GAAAAAGAATCAGGACACATCCGAAACCAA CGATCAGACTACTCACACACATTCTCACGAA AAGACCTACAAGCAGAACTAATCCTACTATTC GAAAAACAAAAAGAATTCGGAAACCCACAC GTATCAGGAGGACTAAAAGAAGGAATCGAA ACACTACTAATGACACAACGACCAGCACTAT CAGGAGACGCAGTACAAAAAATGCTAGGAC ACTGCACATTCGAACCAGCAGAACCAAAAG CAGCAAAAAACACATACACAGCAGAACGATT CATCTGACTAACAAAACTAAACAACCTACGA ATCCTAGAACAAGGATCAGAACGACCACTAA CAGACACAGAACGAGCAACACTAATGGACG AACCATACCGAAAATCAAAACTAACATACGC ACAAGCACGAAAACTACTAGGACTAGAAGA CACAGCATTCTTCAAAGGACTACGATACGGA AAAGACAACGCAGAAGCATCAACACTAATGG AAATGAAAGCATACCACGCAATCTCACGAGC ACTAGAAAAAGAAGGACTAAAAGACAAAAA ATCACCACTAAACCTATCACCAGAACTACAA GACGAAATCGGAACAGCATTCTCACTATTCA AAACAGACGAAGACATCACAGGACGACTAA AAGACCGAATCCAACCAGAAATCCTAGAAGC ACTACTAAAACACATCTCATTCGACAAATTCG TACAAATCTCACTAAAAGCACTACGACGAAT CGTACCACTAATGGAACAAGGAAAACGATAC GACGAAGCATGCGCAGAAATCTACGGAGACC ACTACGGAAAAAAAAACACAGAAGAAAAAA

[1327]

SEQ ID NO	说明	序列
		TCTACCTACCACCAATCCCAGCAGACGAAAT CCGAAACCCAGTAGTACTACGAGCACTATCA CAAGCACGAAAAGTAATCAACGGAGTAGTAC GACGATACGGATCACCAGCACGAATCCACAT CGAAACAGCACGAGAAGTAGGAAAATCATTC AAAGACCGAAAAGAAATCGAAAAACGACAA GAAGAAAACCGAAAAGACCGAGAAAAAGC AGCAGCAAAATTCCGAGAATACTTCCCAAAC TTCGTAGGAGAACCAAAATCAAAAGACATCC TAAAACTACGACTATACGAACAACAACACGG AAAATGCCTATACTCAGGAAAAGAAATCAAC CTAGGACGACTAAACGAAAAAGGATACGTAG AAATCGACCACGCACTACCATTCTCACGAAC ATGAGACGACTCATTCAACAACAAAGTACTA GTACTAGGATCAGAAAACCAAAACAAAGGA AACCAAACACCATACGAATACTTCAACGGAA AAGACAACTCACGAGAATGACAAGAATTCA AAGCACGAGTAGAAACATCACGATTCCCACG ATCAAAAAAACAACGAATCCTACTACAAAAA TTCGACGAAGACGGATTCAAAGAACGAAAC CTAAACGACACACGATACGTAAACCGATTCC TATGCCAATTCGTAGCAGACCGAATGCGACTA ACAGGAAAAGGAAAAAAACGAGTATTCGCA TCAAACGGACAAATCACAAACCTACTACGAG GATTCTGAGGACTACGAAAAGTACGAGCAGA AAACGACCGACACCACGCACTAGACGCAGT AGTAGTAGCATGCTCAACAGTAGCAATGCAA CAAAAAATCACACGATTCGTACGATACAAAG AAATGAACGCATTCGACGGAAAAACAATCGA CAAAGAAACAGGAGAAGTACTACACCAAAA AACACACTTCCCACAACCATGAGAATTCTTC GCACAAGAAGTAATGATCCGAGTATTCGGAA AACCAGACGGAAAACCAGAATTCGAAGAAG CAGACACACTAGAAAAACTACGAACACTACT AGCAGAAAAACTATCATCACGACCAGAAGCA GTACACGAATACGTAACACCACTATTCGTATC ACGAGCACCAAACCGAAAAATGTCAGGACA AGGACACATGGAAACAGTAAAATCAGCAAA ACGACTAGACGAAGGAGTATCAGTACTACGA GTACCACTAACACAACTAAAACTAAAAGACC TAGAAAAAATGGTAAACCGAGAACGAGAAC CAAAACTATACGAAGCACTAAAAGCACGACT AGAAGCACACAAAGACGACCCAGCAAAAGC ATTCGCAGAACCATTCTACAAATACGACAAA GCAGGAAACCGAACACAACAAGTAAAAGCA GTACGAGTAGAACAAGTACAAAAAACAGGA GTATGAGTACGAAACCACAACGGAATCGCAG ACAACGCAACAATGGTACGAGTAGACGTATT

[1328]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGAAAAAGGAGACAAATACTACCTAGTACCA ATCTACTCATGACAAGTAGCAAAAGGAATCC TACCAGACCGAGCAGTAGTACAAGGAAAAG ACGAAGAAGACTGACAACTAATCGACGACTC ATTCAACTTCAAATTCTCACTACACCCAAACG ACCTAGTAGAAGTAATCACAAAAAAAGCACG AATGTTCGGATACTTCGCATCATGCCACCGAG GAACAGGAAACATCAACATCCGAATCCACGA CCTAGACCACAAAATCGGAAAAAACGGAATC CTAGAAGGAATCGGAGTAAAAACAGCACTAT CATTCCAAAAATACCAAATCGACGAACTAGG AAAAGAAATCCGACCATGCCGACTAAAAAAA CGACCACCAGTACGAUAA
198	Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性氨基酸序列	MAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEE NPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLAR SVRRLTRRRAHRLLRTRRLLKREGVLQAANFD ENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV AGNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRN QRSDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHV SGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCT FEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQG SERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLG LEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAIS RALEKEGLKDKKSPLNLSPELQDEIGTAFSLFK TDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKFVQISL KALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKK NTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVING VVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQ EENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILK LRLYEQQHGKCLYSGKEINLGRLNEKGYVEID AALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTP YEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQR ILLQKFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVAD RMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGLRK VRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFV RYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQPW EFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTLEKLRTL LAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGQ GHMETVKSAKRLDEGVSVLRVPLTQLKLKDLE KMVNREREPKLYEALKARLEAHKDDPAKAFA EPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGVW VRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYYLVPIYS WQVAKGILPDRAVVQGKDEEDWQLIDDSFNFK FSLHPNDLVEVITKKARMFGYFASCHRGTGNIN IRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKTALSFQKYQIDE LGKEIRPCRLKKRPPVR
199	编码 Nme1Cas9	GCTGCTTTTAAGCCTAATTCTATTAATTATATT

[1329]

SEQ ID NO	说明	序列
	HNH 切口酶的示例性编码序列	CTTGGTCTTGATATTGGTATTGCTTCTGTTGGT TGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGGAGA ATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTCGTG TTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGACTGG TGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTGCTC GTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGTGCT CATCGTCTTCTTCGTACTCGTCGTCTTCTTAA GCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTAATTTTG ATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCCTAATA CTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTCTTGAT CGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCTGCTGT TCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGTTATCT TTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGACTGCT GATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAGGGTG TTGCTGGTAATGCTCATGCTCTTCAGACTGGT GATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTCTTAA TAAGTTTGAGAAGGAGTCTGGTCATATTCGTA ATCAGCGTTCTGATTATTCTCATACTTTTTCTC GTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTATTCTTCTT TTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAATCCTC ATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTATTGAG ACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTCTTTC TGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGTCATT GTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGCTGC TAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTATTTG GCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCTTGA GCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATACTG AGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTATCGT AAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCGTAA GCTTCTTGGTCTTGAGGATACTGCTTTTTTTA AGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCTGAG GCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTATCA TGCTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGGGTC TTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTTTCT CCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGCTTT TTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTACTG GTCGTCTTAAGGATCGTATTCAGCCTGAGATT CTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTTGAT AAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCTTCG TCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTAAGC GTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTATGGT GATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGGAGA AGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATGAGA TTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTTCTC AGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTTCGT CGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATTGAG ACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTAAGG ATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGAGGA

[1330]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCTGCT AAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTTGG TGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCTTC GTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTCTT TATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGGTCGTCT TAATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATGCTG CTCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCTT TTAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGAG AATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATGA GTATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAGT GGCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTTC TCGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATTC TTCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAAG GAGCGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTAAT CGTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCGTATG CGTCTTACTGGTAAGGGTAAGAAGCGTGTTT TTGCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCTTC GTGGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTGCT GAGAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCTGT TGTTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCAGC AGAAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGGAG ATGAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGATAA GGAGACTGGTGAGGTTCTTCATCAGAAGACT CATTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCTCA GGAGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCCTG ATGGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGATAC TCTTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGAGA AGCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATGAG TATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTCCT AATCGTAAGATGTCTGGTCAGGGTCATATGGA GACTGTTAAGTCTGCTAAGCGTCTTGATGAG GGTGTTTCTGTTCTTCGTGTTCCTCTTACTCA GCTTAAGCTTAAGGATCTTGAGAAGATGGTTA ATCGTGAGCGTGAGCCTAAGCTTTATGAGGC TCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCTCATAAGGATG ATCCTGCTAAGGCTTTTGCTGAGCCTTTTTAT AAGTATGATAAGGCTGGTAATCGTACTCAGCA GGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGCAGGTTCAG AAGACTGGTGTTTGGGTTCGTAATCATAATGG TATTGCTGATAATGCTACTATGGTTCGTGTTGA TGTTTTTGAGAAGGGTGATAAGTATTATCTTG TTCCTATTTATTCTTGGCAGGTTGCTAAGGGT ATTCTTCCTGATCGTGCTGTTGTTCAGGGTAA GGATGAGGAGGATTGGCAGCTTATTGATGATT CTTTTAATTTTAAGTTTTCTCTTCATCCTAATG ATCTTGTTGAGGTTATTACTAAGAAGGCTCGT ATGTTTGGTTATTTTGCTTCTTGTCATCGTGGT ACTGGTAATATTAATATTCGTATTCATGATCTT

[1331]

SEQ ID NO	说明	序列
		GATCATAAGATTGGTAAGAATGGTATTCTTGA GGGTATTGGTGTTAAGACTGCTCTTTCTTTTC AGAAGTATCAGATTGATGAGCTTGGTAAGGA GATTCGTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGTCCTC CTGTTCGT
200	编码 Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性编码序列	GCCGCCTTCAAGCCCAACTCCATCAACTACAT CCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTG GGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAG GAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCG TGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCA AGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCG GCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGG CGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGACCCGG CGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAG GCCGCCAACTTCGACGAGAACGGCCTGATCA AGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCG GGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCC CTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGA TCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAA GAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCT GGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCGGCAA CGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGG ACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCG AGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGC GGTCCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAA GGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTC GAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCAC GTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAG ACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGT CCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCC ACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGC CGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTC ATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGA TCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGAC CGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGA GCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCC CAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGAC ACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCA AGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGA GATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCC CTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAG TCCCCCCTGAACCTGTCCCCCGAGCTGCAGG ACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAA GACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAA GGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTGGAGGCC CTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCG TGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGAT CGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTAC

[1332]

SEQ ID NO	说明	序列
		GACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACC ACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGA TCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATC CGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCC AGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGC GGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACAT CGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTT CAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCA GGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGG CCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAA CTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATC CTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACG GCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAA CCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT GGAGATCGACGCCGCCCTGCCCTTCTCCCGG ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGC TGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGG GCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGG CAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTT CAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCC CGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGCGGA ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGGATGCGG CTGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGTGTTC GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC ATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCTGCAC CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA GGAGGCCGACACCCTGGAGAAGCTGCGGAC CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC CGGCCAGGGCCACATGGAGACCGTGAAGTC CGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGTCCGT GCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAGCTG AAGGACCTGGAGAAGATGGTGAACCGGGAG CGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTGAAG GCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGACCCC GCCAAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACAAGT ACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGG TGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGCAGA

[1333]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACAACG GCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCGGGT GGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTACTAC CTGGTGCCCATCTACTCCTGGCAGGTGGCCA AGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGTGCA GGGCAAGGACGAGGAGGACTGGCAGCTGAT CGACGACTCCTTCAACTTCAAGTTCTCCCTG CACCCCAACGACCTGGTGGAGGTGATCACCA AGAAGGCCCGGATGTTCGGCTACTTCGCCTC CTGCCACCGGGGCACCGGCAACATCAACATC CGGATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGCA AGAACGGCATCCTGGAGGGCATCGGCGTGAA GACCGCCCTGTCCTTCCAGAAGTACCAGATC GACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGC CGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGG
201	编码 Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性编码序列	GCAGCATTCAAACCAAACTCAATCAACTACA TCCTAGGACTAGACATCGGAATCGCATCAGTA GGATGAGCAATGGTAGAAATCGACGAAGAAG AAAACCCAATCCGACTAATCGACCTAGGAGT ACGAGTATTCGAACGAGCAGAAGTACCAAAA ACAGGAGACTCACTAGCAATGGCACGACGAC TAGCACGATCAGTACGACGACTAACACGACG ACGAGCACACCGACTACTACGAACACGACG ACTACTAAAACGAGAAGGAGTACTACAAGCA GCAAACTTCGACGAAAACGGACTAATCAAAT CACTACCAAACACACCATGACAACTACGAGC AGCAGCACTAGACCGAAAACTAACACCACTA GAATGATCAGCAGTACTACTACACCTAATCAA ACACCGAGGATACCTATCACAACGAAAAAAC GAAGGAGAAACAGCAGACAAAGAACTAGGA GCACTACTAAAAGGAGTAGCAGGAAACGCA CACGCACTACAAACAGGAGACTTCCGAACAC CAGCAGAACTAGCACTAAACAAATTCGAAAA AGAATCAGGACACATCCGAAACCAACGATCA GACTACTCACACACATTCTCACGAAAAGACC TACAAGCAGAACTAATCCTACTATTCGAAAA ACAAAAAGAATTCGGAAACCCACACGTATCA GGAGGACTAAAAGAAGGAATCGAAACACTA CTAATGACACAACGACCAGCACTATCAGGAG ACGCAGTACAAAAAATGCTAGGACACTGCAC ATTCGAACCAGCAGAACCAAAAGCAGCAAA AAACACATACACAGCAGAACGATTCATCTGA CTAACAAAACTAAACAACCTACGAATCCTAG AACAAGGATCAGAACGACCACTAACAGACA CAGAACGAGCAACACTAATGGACGAACCATA CCGAAAATCAAAACTAACATACGCACAAGCA CGAAAACTACTAGGACTAGAAGACACAGCAT TCTTCAAAGGACTACGATACGGAAAAGACAA

[1334]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGCAGAAGCATCAACACTAATGGAAATGAAA GCATACCACGCAATCTCACGAGCACTAGAAA AAGAAGGACTAAAAGACAAAAAATCACCAC TAAACCTATCACCAGAACTACAAGACGAAAT CGGAACAGCATTCTCACTATTCAAAACAGAC GAAGACATCACAGGACGACTAAAAGACCGA ATCCAACCAGAAATCCTAGAAGCACTACTAA AACACATCTCATTCGACAAATTCGTACAAATC TCACTAAAAGCACTACGACGAATCGTACCAC TAATGGAACAAGGAAAACGATACGACGAAG CATGCGCAGAAATCTACGGAGACCACTACGG AAAAAAAAACACAGAAGAAAAAATCTACCT ACCACCAATCCCAGCAGACGAAATCCGAAAC CCAGTAGTACTACGAGCACTATCACAAGCAC GAAAAGTAATCAACGGAGTAGTACGACGATA CGGATCACCAGCACGAATCCACATCGAAACA GCACGAGAAGTAGGAAAATCATTCAAAGACC GAAAAGAAATCGAAAAACGACAAGAAGAAA ACCGAAAAGACCGAGAAAAAGCAGCAGCAA AATTCCGAGAATACTTCCCAAACTTCGTAGG AGAACCAAAATCAAAAGACATCCTAAAACTA CGACTATACGAACAACAACACGGAAAATGCC TATACTCAGGAAAAGAAATCAACCTAGGACG ACTAAACGAAAAAGGATACGTAGAAATCGAC GCAGCACTACCATTCTCACGAACATGAGACG ACTCATTCAACAACAAAGTACTAGTACTAGG ATCAGAAAACCAAAACAAAGGAAACCAAAC ACCATACGAATACTTCAACGGAAAAGACAAC TCACGAGAATGACAAGAATTCAAAGCACGA GTAGAAACATCACGATTCCCACGATCAAAAA AACAACGAATCCTACTACAAAAATTCGACGA AGACGGATTCAAAGAACGAAACCTAAACGA CACACGATACGTAAACCGATTCCTATGCCAAT TCGTAGCAGACCGAATGCGACTAACAGGAAA AGGAAAAAAACGAGTATTCGCATCAAACGGA CAAATCACAAACCTACTACGAGGATTCTGAG GACTACGAAAAGTACGAGCAGAAAACGACC GACACCACGCACTAGACGCAGTAGTAGTAGC ATGCTCAACAGTAGCAATGCAACAAAAAATC ACACGATTCGTACGATACAAAGAAATGAACG CATTCGACGGAAAAACAATCGACAAAGAAA CAGGAGAAGTACTACACCAAAAAACACACTT CCCACAACCATGAGAATTCTTCGCACAAGAA GTAATGATCCGAGTATTCGGAAAACCAGACG GAAAACCAGAATTCGAAGAAGCAGACACAC TAGAAAAACTACGAACACTACTAGCAGAAAA ACTATCATCACGACCAGAAGCAGTACACGAA TACGTAACACCACTATTCGTATCACGAGCACC

[1335]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAACCGAAAAATGTCAGGACAAGGACACAT GGAAACAGTAAAATCAGCAAAACGACTAGA CGAAGGAGTATCAGTACTACGAGTACCACTA ACACAACTAAAACTAAAAGACCTAGAAAAA ATGGTAAACCGAGAACGAGAACCAAAACTAT ACGAAGCACTAAAAGCACGACTAGAAGCAC ACAAAGACGACCCAGCAAAAGCATTCGCAG AACCATTCTACAAATACGACAAAGCAGGAAA CCGAACACAACAAGTAAAAGCAGTACGAGT AGAACAAGTACAAAAAACAGGAGTATGAGT ACGAAACCACAACGGAATCGCAGACAACGC AACAATGGTACGAGTAGACGTATTCGAAAAA GGAGACAAATACTACCTAGTACCAATCTACTC ATGACAAGTAGCAAAAGGAATCCTACCAGAC CGAGCAGTAGTACAAGGAAAAGACGAAGAA GACTGACAACTAATCGACGACTCATTCAACT TCAAATTCTCACTACACCCAAACGACCTAGTA GAAGTAATCACAAAAAAAGCACGAATGTTCG GATACTTCGCATCATGCCACCGAGGAACAGG AAACATCAACATCCGAATCCACGACCTAGAC CACAAAATCGGAAAAAACGGAATCCTAGAA GGAATCGGAGTAAAAACAGCACTATCATTCC AAAAATACCAAATCGACGAACTAGGAAAAG AAATCCGACCATGCCGACTAAAAAAACGACC ACCAGTACGA
202	Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性开放阅读框	ATGGCTGCTTTTAAGCCTAATTCTATTAATTAT ATTCTTGGTCTTGATATTGGTATTGCTTCTGTT GGTTGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGG AGAATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTC GTGTTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGAC TGGTGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTG CTCGTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGT GCTCATCGTCTTCTTCGTACTCGTCGTCTTCTT AAGCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTAATT TTGATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCCT AATACTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTCT TGATCGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCTG CTGTTCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGTT ATCTTTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGAC TGCTGATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAGG GTGTTGCTGGTAATGCTCATGCTCTTCAGACT GGTGATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTCT TAATAAGTTTGAGAAGGAGTCTGGTCATATTC GTAATCAGCGTTCTGATTATTCTCATACTTTTT CTCGTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTATTCTT CTTTTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAATC CTCATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTATT GAGACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTCT

[1336]

SEQ ID NO	说明	序列
		TTCTGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGTC ATTGTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGCT GCTAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTATT TGGCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCTT GAGCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATA CTGAGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTAT CGTAAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCG TAAGCTTCTTGGTCTTGAGGATACTGCTTTTT TTAAGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCT GAGGCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTA TCATGCTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGG GTCTTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTT TCTCCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGC TTTTTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTAC TGGTCGTCTTAAGGATCGTATTCAGCCTGAGA TTCTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTTG ATAAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCTT CGTCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTAA GCGTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTATG GTGATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGGA GAAGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATGA GATTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTTC TCAGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTTC GTCGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATTG AGACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTAA GGATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGAG GAGAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCTG CTAAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTTG GTGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCTT CGTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTCT TTATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGGTCGTC TTAATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATGCT GCTCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCT TTTAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGA GAATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATG AGTATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAG TGGCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTT CTCGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATT CTTCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAA GGAGCGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTA ATCGTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCGTA TGCGTCTTACTGGTAAGGGTAAGAAGCGTGT TTTTGCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCT TCGTGGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTG CTGAGAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCT GTTGTTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCA GCAGAAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGG AGATGAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGAT

[1337]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGGAGACTGGTGAGGTTCTTCATCAGAAGA CTCATTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCT CAGGAGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCC TGATGGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGAT ACTCTTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGA GAAGCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATG AGTATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTC CTAATCGTAAGATGTCTGGTCAGGGTCATATG GAGACTGTTAAGTCTGCTAAGCGTCTTGATG AGGGTGTTTCTGTTCTTCGTGTTCCTCTTACT CAGCTTAAGCTTAAGGATCTTGAGAAGATGG TTAATCGTGAGCGTGAGCCTAAGCTTTATGAG GCTCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCTCATAAGG ATGATCCTGCTAAGGCTTTTGCTGAGCCTTTT TATAAGTATGATAAGGCTGGTAATCGTACTCA GCAGGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGCAGGTT CAGAAGACTGGTGTTTGGGTTCGTAATCATA ATGGTATTGCTGATAATGCTACTATGGTTCGTG TTGATGTTTTTGAGAAGGGTGATAAGTATTAT CTTGTTCCTATTTATTCTTGGCAGGTTGCTAAG GGTATTCTTCCTGATCGTGCTGTTGTTCAGGG TAAGGATGAGGAGGATTGGCAGCTTATTGAT GATTCTTTTAATTTTAAGTTTTCTCTTCATCCT AATGATCTTGTTGAGGTTATTACTAAGAAGGC TCGTATGTTTGGTTATTTTGCTTCTTGTCATCG TGGTACTGGTAATATTAATATTCGTATTCATGA TCTTGATCATAAGATTGGTAAGAATGGTATTC TTGAGGGTATTGGTGTTAAGACTGCTCTTTCT TTTCAGAAGTATCAGATTGATGAGCTTGGTAA GGAGATTCGTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGT CCTCCTGTTCGTUGA
203	Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性开放阅读框	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACTCCATCAACT ACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTC CGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAG GAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGG GCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGC CCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCG GCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACC CGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGACC CGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTG CAGGCCGCCAACTTCGACGAGAACGGCCTG ATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGC TGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGA CCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCA CCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAG CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG GAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCC GGCAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGAC

[1338]

SEQ ID NO	说明	序列
		TTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACA AGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGA ACCAGCGGTCCGACTACTCCCACACCTTCTC CCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTG CTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAAC CCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGC ATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCG CCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCT GGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCC AAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAG CGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACC TGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCC CCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATG GACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCT ACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGG AGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTA CGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCT GATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCC CGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGAC AAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCCCCGAGC TGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCT GTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCG GCTGAAGGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTG GAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACA AGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCG GCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAG CGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACG GCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGG AGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGA CGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCC CTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCG TGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGAT CCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAA GTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAA GCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGA GAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTC CCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGG ACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCA GCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAG ATCAACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGC TACGTGGAGATCGACGCCGCCCTGCCCTTCT CCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAA GGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAA CAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTC AACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAG GAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGT TCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCT GCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGA

[1339]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCGGAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAA CCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGG ATGCGGCTGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGG GTGTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACC TGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGT GCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCT GGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTG GCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGC GGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAA GACCATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCT GCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGG GAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGG TGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTT CGAGGAGGCCGACACCCTGGAGAAGCTGCG GACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGG CCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCC TGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAT GTCCGGCCAGGGCCACATGGAGACCGTGAA GTCCGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGTC CGTGCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAG CTGAAGGACCTGGAGAAGATGGTGAACCGG GAGCGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTG AAGGCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGAC CCCGCCAAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACA AGTACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGC AGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGC AGAAGACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACA ACGGCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCG GGTGGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTA CTACCTGGTGCCCATCTACTCCTGGCAGGTGG CCAAGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGT GCAGGGCAAGGACGAGGAGGACTGGCAGCT GATCGACGACTCCTTCAACTTCAAGTTCTCCC TGCACCCCAACGACCTGGTGGAGGTGATCAC CAAGAAGGCCCGGATGTTCGGCTACTTCGCC TCCTGCCACCGGGGCACCGGCAACATCAACA TCCGGATCCACGACCTGGACCACAAGATCGG CAAGAACGGCATCCTGGAGGGCATCGGCGTG AAGACCGCCCTGTCCTTCCAGAAGTACCAGA TCGACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTG CCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGUG A
204	Nme1Cas9 HNH 切口酶的示例性开放阅读框	ATGGCAGCATTCAAACCAAACTCAATCAACT ACATCCTAGGACTAGACATCGGAATCGCATCA GTAGGATGAGCAATGGTAGAAATCGACGAAG AAGAAAACCCAATCCGACTAATCGACCTAGG AGTACGAGTATTCGAACGAGCAGAAGTACCA AAAACAGGAGACTCACTAGCAATGGCACGA

[1340]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGACTAGCACGATCAGTACGACGACTAACAC GACGACGAGCACACCGACTACTACGAACAC GACGACTACTAAAACGAGAAGGAGTACTACA AGCAGCAAACTTCGACGAAAACGGACTAATC AAATCACTACCAAACACACCATGACAACTAC GAGCAGCAGCACTAGACCGAAAACTAACAC CACTAGAATGATCAGCAGTACTACTACACCTA ATCAAACACCGAGGATACCTATCACAACGAA AAAACGAAGGAGAAACAGCAGACAAAGAA CTAGGAGCACTACTAAAAGGAGTAGCAGGAA ACGCACACGCACTACAAACAGGAGACTTCCG AACACCAGCAGAACTAGCACTAAACAAATTC GAAAAAGAATCAGGACACATCCGAAACCAA CGATCAGACTACTCACACACATTCTCACGAA AAGACCTACAAGCAGAACTAATCCTACTATTC GAAAAACAAAAAGAATTCGGAAACCCACAC GTATCAGGAGGACTAAAAGAAGGAATCGAA ACACTACTAATGACACAACGACCAGCACTAT CAGGAGACGCAGTACAAAAAATGCTAGGAC ACTGCACATTCGAACCAGCAGAACCAAAAG CAGCAAAAAACACATACACAGCAGAACGATT CATCTGACTAACAAAACTAAACAACCTACGA ATCCTAGAACAAGGATCAGAACGACCACTAA CAGACACAGAACGAGCAACACTAATGGACG AACCATACCGAAAATCAAAACTAACATACGC ACAAGCACGAAAACTACTAGGACTAGAAGA CACAGCATTCTTCAAAGGACTACGATACGGA AAAGACAACGCAGAAGCATCAACACTAATGG AAATGAAAGCATACCACGCAATCTCACGAGC ACTAGAAAAAGAAGGACTAAAAGACAAAAA ATCACCACTAAACCTATCACCAGAACTACAA GACGAAATCGGAACAGCATTCTCACTATTCA AAACAGACGAAGACATCACAGGACGACTAA AAGACCGAATCCAACCAGAAATCCTAGAAGC ACTACTAAAACACATCTCATTCGACAAATTCG TACAAATCTCACTAAAAGCACTACGACGAAT CGTACCACTAATGGAACAAGGAAAACGATAC GACGAAGCATGCGCAGAAATCTACGGAGACC ACTACGGAAAAAAAAACACAGAAGAAAAAA TCTACCTACCACCAATCCCAGCAGACGAAAT CCGAAACCCAGTAGTACTACGAGCACTATCA CAAGCACGAAAAGTAATCAACGGAGTAGTAC GACGATACGGATCACCAGCACGAATCCACAT CGAAACAGCACGAGAAGTAGGAAAATCATTC AAAGACCGAAAAGAAATCGAAAAACGACAA GAAGAAAACCGAAAAGACCGAGAAAAAGC AGCAGCAAAATTCCGAGAATACTTCCCAAAC TTCGTAGGAGAACCAAAATCAAAAGACATCC

[1341]

SEQ ID NO	说明	序列
		TAAAACTACGACTATACGAACAACAACACGG AAAATGCCTATACTCAGGAAAAGAAATCAAC CTAGGACGACTAAACGAAAAAGGATACGTAG AAATCGACGCAGCACTACCATTCTCACGAAC ATGAGACGACTCATTCAACAACAAAGTACTA GTACTAGGATCAGAAAACCAAAACAAAGGA AACCAAACACCATACGAATACTTCAACGGAA AAGACAACTCACGAGAATGACAAGAATTCA AAGCACGAGTAGAAACATCACGATTCCCACG ATCAAAAAAACAACGAATCCTACTACAAAAA TTCGACGAAGACGGATTCAAAGAACGAAAC CTAAACGACACACGATACGTAAACCGATTCC TATGCCAATTCGTAGCAGACCGAATGCGACTA ACAGGAAAAGGAAAAAAACGAGTATTCGCA TCAAACGGACAAATCACAAACCTACTACGAG GATTCTGAGGACTACGAAAAGTACGAGCAGA AAACGACCGACACCACGCACTAGACGCAGT AGTAGTAGCATGCTCAACAGTAGCAATGCAA CAAAAAATCACACGATTCGTACGATACAAAG AAATGAACGCATTCGACGGAAAAACAATCGA CAAAGAAACAGGAGAAGTACTACACCAAAA AACACACTTCCCACAACCATGAGAATTCTTC GCACAAGAAGTAATGATCCGAGTATTCGGAA AACCAGACGGAAAACCAGAATTCGAAGAAG CAGACACACTAGAAAAACTACGAACACTACT AGCAGAAAAACTATCATCACGACCAGAAGCA GTACACGAATACGTAACACCACTATTCGTATC ACGAGCACCAAACCGAAAAATGTCAGGACA AGGACACATGGAAACAGTAAAATCAGCAAA ACGACTAGACGAAGGAGTATCAGTACTACGA GTACCACTAACACAACTAAAACTAAAAGACC TAGAAAAAATGGTAAACCGAGAACGAGAAC CAAAACTATACGAAGCACTAAAAGCACGACT AGAAGCACACAAAGACGACCCAGCAAAAGC ATTCGCAGAACCATTCTACAAATACGACAAA GCAGGAAACCGAACACAACAAGTAAAAGCA GTACGAGTAGAACAAGTACAAAAAACAGGA GTATGAGTACGAAACCACAACGGAATCGCAG ACAACGCAACAATGGTACGAGTAGACGTATT CGAAAAAGGAGACAAATACTACCTAGTACCA ATCTACTCATGACAAGTAGCAAAAGGAATCC TACCAGACCGAGCAGTAGTACAAGGAAAAG ACGAAGAAGACTGACAACTAATCGACGACTC ATTCAACTTCAAATTCTCACTACACCCAAACG ACCTAGTAGAAGTAATCACAAAAAAAGCACG AATGTTCGGATACTTCGCATCATGCCACCGAG GAACAGGAAACATCAACATCCGAATCCACGA CCTAGACCACAAAATCGGAAAAAACGGAATC

[1342]

SEQ ID NO	说明	序列
		CTAGAAGGAATCGGAGTAAAAACAGCACTAT CATTCCAAAAATACCAAATCGACGAACTAGG AAAAGAAATCCGACCATGCCGACTAAAAAAA CGACCACCAGTACGAUAA
205	Nme2Cas9 裂解酶的示例性氨基酸序列	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEE NPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLAR SVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFD ENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV ANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRN QRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPH VSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHC TFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQ GSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLL GLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHA ISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLF KTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQI SLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGK KNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVIN GVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKR QEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDIL KLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEI DHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQ TPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKK QRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFV ADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLR KVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRF VRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRT LLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLA DLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNA KQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESG VLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKG KNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSY TFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSS NGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQ VNELGKEIRPCRLKKRPPVR
206	编码 Nme2Cas9 裂解酶的示例性编码序列	GCTGCTTTTAAGCCTAATCCTATTAATTATATT CTTGGTCTTGATATTGGTATTGCTTCTGTTGGT TGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGGAGA ATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTCGTG TTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGACTGG TGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTGCTC GTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGTGCT CATCGTCTTCTTCGTGCTCGTCGTCTTCTTAA GCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTGATTTT GATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCCTAA

[1343]

SEQ ID NO	说明	序列
		TACTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTCTTG ATCGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCTGCT GTTCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGTTAT CTTTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGACTG CTGATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAGGGT GTTGCTAATAATGCTCATGCTCTTCAGACTGG TGATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTCTTA ATAAGTTTGAGAAGGAGTCTGGTCATATTCGT AATCAGCGTGGTGATTATTCTCATACTTTTTCT CGTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTATTCTTCT TTTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAATCCT CATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTATTGA GACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTCTTT CTGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGTCAT TGTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGCTG CTAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTATTT GGCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCTTG AGCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATACT GAGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTATCG TAAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCGTA AGCTTCTTGGTCTTGAGGATACTGCTTTTTTT AAGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCTGA GGCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTATC ATGCTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGGGT CTTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTTTC TTCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGCTT TTTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTACTG GTCGTCTTAAGGATCGTGTTCAGCCTGAGATT CTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTTGAT AAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCTTCG TCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTAAGC GTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTATGGT GATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGGAGA AGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATGAGA TTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTTCTC AGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTTCGT CGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATTGAG ACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTAAGG ATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGAGGA GAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCTGCT AAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTTGG TGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCTTC GTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTCTT TATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGTTCGTCTT AATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATCATGC TCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCTTT TAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGAGA ATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATGAG

[1344]

SEQ ID NO	说明	序列
		TATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAGTG GCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTTCT CGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATTCT TCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAAGG AGTGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTAATC GTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCATATTC TTCTTACTGGTAAGGGTAAGCGTCGTGTTTTT GCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCTTCGT GGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTGCTGA GAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCTGTTG TTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCAGCAG AAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGGAGAT GAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGATAAGG AGACTGGTAAGGTTCTTCATCAGAAGACTCA TTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCTCAGG AGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCCTGAT GGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGATACTC CTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGAGAA GCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATGAGT ATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTCCTA ATCGTAAGATGTCTGGTGCTCATAAGGATACT CTTCGTTCTGCTAAGCGTTTTGTTAAGCATAA TGAGAAGATTTCTGTTAAGCGTGTTTGGCTTA CTGAGATTAAGCTTGCTGATCTTGAGAATATG GTTAATTATAAGAATGGTCGTGAGATTGAGCT TTATGAGGCTCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCTT ATGGTGGTAATGCTAAGCAGGCTTTTGATCCT AAGGATAATCCTTTTTATAAGAAGGGTGGTCA GCTTGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGAAGACT CAGGAGTCTGGTGTTCTTCTTAATAAGAAGA ATGCTTATACTATTGCTGATAATGGTGATATGG TTCGTGTTGATGTTTTTTGTAAGGTTGATAAG AAGGGTAAGAATCAGTATTTTATTGTTCCTATT TATGCTTGGCAGGTTGCTGAGAATATTCTTCC TGATATTGATTGTAAGGGTTATCGTATTGATGA TTCTTATACTTTTTGTTTTTCTCTTCATAAGTAT GATCTTATTGCTTTTCAGAAGGATGAGAAGTC TAAGGTTGAGTTTGCTTATTATATTAATTGTGA TTCTTCTAATGGTCGTTTTTATCTTGCTTGGCA TGATAAGGGTTCTAAGGAGCAGCAGTTTCGT ATTTCTACTCAGAATCTTGTTCTTATTCAGAA GTATCAGGTTAATGAGCTTGGTAAGGAGATTC GTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGTCCTCCTGTT CGT
207	编码 Nme2Cas9 裂解酶的示例性编码序列	GCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACA TCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGT GGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGA GGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGC

[1345]

SEQ ID NO	说明	序列
		GTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCC AAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGC GGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCG GCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCG GCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCA GGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATC AAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGC GGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCC CCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCT GATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGG AAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAG CTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAAC AACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCC GGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTT CGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCA GCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGG AAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGT TCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCC ACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCG AGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCT GTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGC CACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTT CATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGG ATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGA CCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACG AGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGC CCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGA CACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGC AAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGG AGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGC CCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAA GTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAG GACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCA AGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGA AGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGG CCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTT CGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGG ATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGT ACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGA CCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAA GATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAG ATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGT CCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGT GCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCAC ATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCT TCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGC AGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAG

[1346]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCA ACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACAT CCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCAC GGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCA ACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT GGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGG ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGC TGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGG GCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGG CAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTT CAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCC CGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCA ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTG CTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTC GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC ATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCAC CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA GGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGAC CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC CGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCC AAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATC TCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCA AGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTA CAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGA GGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGC GGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAG GACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGC TGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCC AGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGA ACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACAT GGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGAC AAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGC CCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACAT CCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGG ATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCT GCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAG GACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACT

[1347]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTT CTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAG GAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACC TGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGA GCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTG AAGAAGCGGCCCCCCGTGCGG
208	编码 Nme2Cas9 裂解酶的示例性编码序列	GCAGCATTCAAACCAAACCCAATCAACTACA TCCTAGGACTAGACATCGGAATCGCATCAGTA GGATGAGCAATGGTAGAAATCGACGAAGAAG AAAACCCAATCCGACTAATCGACCTAGGAGT ACGAGTATTCGAACGAGCAGAAGTACCAAAA ACAGGAGACTCACTAGCAATGGCACGACGAC TAGCACGATCAGTACGACGACTAACACGACG ACGAGCACACCGACTACTACGAGCACGACG ACTACTAAAACGAGAAGGAGTACTACAAGCA GCAGACTTCGACGAAAACGGACTAATCAAAT CACTACCAAACACACCATGACAACTACGAGC AGCAGCACTAGACCGAAAACTAACACCACTA GAATGATCAGCAGTACTACTACACCTAATCAA ACACCGAGGATACCTATCACAACGAAAAAAC GAAGGAGAAACAGCAGACAAAGAACTAGGA GCACTACTAAAAGGAGTAGCAAACAACGCAC ACGCACTACAAACAGGAGACTTCCGAACACC AGCAGAACTAGCACTAAACAAATTCGAAAAA GAATCAGGACACATCCGAAACCAACGAGGA GACTACTCACACACATTCTCACGAAAAGACC TACAAGCAGAACTAATCCTACTATTCGAAAA ACAAAAAGAATTCGGAAACCCACACGTATCA GGAGGACTAAAAGAAGGAATCGAAACACTA CTAATGACACAACGACCAGCACTATCAGGAG ACGCAGTACAAAAAATGCTAGGACACTGCAC ATTCGAACCAGCAGAACCAAAAGCAGCAAA AAACACATACACAGCAGAACGATTCATCTGA CTAACAAAACTAAACAACCTACGAATCCTAG AACAAGGATCAGAACGACCACTAACAGACA CAGAACGAGCAACACTAATGGACGAACCATA CCGAAAATCAAAACTAACATACGCACAAGCA CGAAAACTACTAGGACTAGAAGACACAGCAT TCTTCAAAGGACTACGATACGGAAAAGACAA CGCAGAAGCATCAACACTAATGGAAATGAAA GCATACCACGCAATCTCACGAGCACTAGAAA AAGAAGGACTAAAAGACAAAAAATCACCAC TAAACCTATCATCAGAACTACAAGACGAAAT CGGAACAGCATTCTCACTATTCAAAACAGAC GAAGACATCACAGGACGACTAAAAGACCGA GTACAACCAGAAATCCTAGAAGCACTACTAA AACACATCTCATTCGACAAATTCGTACAAATC TCACTAAAAGCACTACGACGAATCGTACCAC

[1348]

SEQ ID NO	说明	序列
		TAATGGAACAAGGAAAACGATACGACGAAG CATGCGCAGAAATCTACGGAGACCACTACGG AAAAAAAAACACAGAAGAAAAAATCTACCT ACCACCAATCCCAGCAGACGAAATCCGAAAC CCAGTAGTACTACGAGCACTATCACAAGCAC GAAAAGTAATCAACGGAGTAGTACGACGATA CGGATCACCAGCACGAATCCACATCGAAACA GCACGAGAAGTAGGAAAATCATTCAAAGACC GAAAAGAAATCGAAAAACGACAAGAAGAAA ACCGAAAAGACCGAGAAAAAGCAGCAGCAA AATTCCGAGAATACTTCCCAAACTTCGTAGG AGAACCAAAATCAAAAGACATCCTAAAACTA CGACTATACGAACAACAACACGGAAAATGCC TATACTCAGGAAAAGAAATCAACCTAGTACG ACTAAACGAAAAAGGATACGTAGAAATCGAC CACGCACTACCATTCTCACGAACATGAGACG ACTCATTCAACAACAAAGTACTAGTACTAGG ATCAGAAAACCAAAACAAAGGAAACCAAAC ACCATACGAATACTTCAACGGAAAAGACAAC TCACGAGAATGACAAGAATTCAAAGCACGA GTAGAAACATCACGATTCCCACGATCAAAAA AACAACGAATCCTACTACAAAAATTCGACGA AGACGGATTCAAAGAATGCAACCTAAACGAC ACACGATACGTAAACCGATTCCTATGCCAATT CGTAGCAGACCACATCCTACTAACAGGAAAA GGAAAACGACGAGTATTCGCATCAAACGGAC AAATCACAAACCTACTACGAGGATTCTGAGG ACTACGAAAAGTACGAGCAGAAAACGACCG ACACCACGCACTAGACGCAGTAGTAGTAGCA TGCTCAACAGTAGCAATGCAACAAAAAATCA CACGATTCGTACGATACAAAGAAATGAACGC ATTCGACGGAAAAACAATCGACAAAGAAAC AGGAAAAGTACTACACCAAAAAACACACTTC CCACAACCATGAGAATTCTTCGCACAAGAAG TAATGATCCGAGTATTCGGAAAACCAGACGG AAAACCAGAATTCGAAGAAGCAGACACACC AGAAAAACTACGAACACTACTAGCAGAAAA ACTATCATCACGACCAGAAGCAGTACACGAA TACGTAACACCACTATTCGTATCACGAGCACC AAACCGAAAAATGTCAGGAGCACACAAAGA CACACTACGATCAGCAAAACGATTCGTAAAA CACAACGAAAAAATCTCAGTAAAACGAGTAT GACTAACAGAAATCAAACTAGCAGACCTAGA AAACATGGTAAACTACAAAAACGGACGAGA AATCGAACTATACGAAGCACTAAAAGCACGA CTAGAAGCATACGGAGGAAACGCAAAACAA GCATTCGACCCAAAAGACAACCCATTCTACA AAAAAGGAGGACAACTAGTAAAAGCAGTAC

[1349]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAGTAGAAAAAACACAAGAATCAGGAGTAC TACTAAACAAAAAAAACGCATACACAATCGC AGACAACGGAGACATGGTACGAGTAGACGTA TTCTGCAAAGTAGACAAAAAAGGAAAAAAC CAATACTTCATCGTACCAATCTACGCATGACA AGTAGCAGAAAACATCCTACCAGACATCGAC TGCAAAGGATACCGAATCGACGACTCATACA CATTCTGCTTCTCACTACACAAATACGACCTA ATCGCATTCCAAAAAGACGAAAAATCAAAAG TAGAATTCGCATACTACATCAACTGCGACTCA TCAAACGGACGATTCTACCTAGCATGACACG ACAAAGGATCAAAAGAACAACAATTCCGAAT CTCAACACAAAACCTAGTACTAATCCAAAAA TACCAAGTAAACGAACTAGGAAAAGAAATCC GACCATGCCGACTAAAAAAACGACCACCAGT ACGA
209	Nme2Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框	ATGGCTGCTTTTAAGCCTAATCCTATTAATTAT ATTCTTGGTCTTGATATTGGTATTGCTTCTGTT GGTTGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGG AGAATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTC GTGTTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGAC TGGTGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTG CTCGTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGT GCTCATCGTCTTCTTCGTGCTCGTCGTCTTCT TAAGCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTGAT TTTGATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCC TAATACTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTC TTGATCGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCT GCTGTTCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGT TATCTTTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGA CTGCTGATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAG GGTGTTGCTAATAATGCTCATGCTCTTCAGAC TGGTGATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTC TTAATAAGTTTGAGAAGGAGTCTGGTCATATT CGTAATCAGCGTGGTGATTATTCTCATACTTTT TCTCGTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTATTCT TCTTTTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAAT CCTCATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTAT TGAGACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTC TTTCTGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGT CATTGTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGC TGCTAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTAT TTGGCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCT TGAGCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATA CTGAGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTAT CGTAAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCG TAAGCTTCTTGGTCTTGAGGATACTGCTTTTT TTAAGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCT

[1350]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAGGCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTA TCATGCTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGG GTCTTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTT TCTTCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGC TTTTTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTAC TGGTCGTCTTAAGGATCGTGTTCAGCCTGAG ATTCTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTT GATAAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCT TCGTCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTA AGCGTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTAT GGTGATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGG AGAAGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATG AGATTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTT CTCAGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTT CGTCGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATT GAGACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTA AGGATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGA GGAGAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCT GCTAAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTT GGTGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCT TCGTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTC TTTATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGTTCGTC TTAATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATCAT GCTCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCT TTTAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGA GAATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATG AGTATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAG TGGCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTT CTCGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATT CTTCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAA GGAGTGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTAA TCGTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCATAT TCTTCTTACTGGTAAGGGTAAGCGTCGTGTTT TTGCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCTTC GTGGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTGCT GAGAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCTGT TGTTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCAGC AGAAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGGAG ATGAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGATAA GGAGACTGGTAAGGTTCTTCATCAGAAGACT CATTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCTCA GGAGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCCTG ATGGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGATAC TCCTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGAGA AGCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATGAG TATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTCCT AATCGTAAGATGTCTGGTGCTCATAAGGATAC TCTTCGTTCTGCTAAGCGTTTTGTTAAGCATA

SEQ ID NO	说明	序列
		ATGAGAAGATTTCTGTTAAGCGTGTTTGGCTT ACTGAGATTAAGCTTGCTGATCTTGAGAATAT GGTTAATTATAAGAATGGTCGTGAGATTGAGC TTTATGAGGCTCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCT TATGGTGGTAATGCTAAGCAGGCTTTTGATCC TAAGGATAATCCTTTTTATAAGAAGGGTGGTC AGCTTGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGAAGAC TCAGGAGTCTGGTGTTCTTCTTAATAAGAAG AATGCTTATACTATTGCTGATAATGGTGATATG GTTCGTGTTGATGTTTTTTGTAAGGTTGATAA GAAGGGTAAGAATCAGTATTTTATTGTTCCTA TTTATGCTTGGCAGGTTGCTGAGAATATTCTT CCTGATATTGATTGTAAGGGTTATCGTATTGAT GATTCTTATACTTTTTGTTTTTCTCTTCATAAG TATGATCTTATTGCTTTTCAGAAGGATGAGAA GTCTAAGGTTGAGTTTGCTTATTATATTAATTG TGATTCTTCTAATGGTCGTTTTTATCTTGCTTG GCATGATAAGGGTTCTAAGGAGCAGCAGTTT CGTATTTCTACTCAGAATCTTGTTCTTATTCAG AAGTATCAGGTTAATGAGCTTGGTAAGGAGA TTCGTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGTCCTCCT GTTCGTUGA
210	Nme2Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACT ACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTC CGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAG GAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGG GCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGC CCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCG GCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACC CGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCC CGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTG CAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTG ATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGC TGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGA CCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCA CCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAG CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG GAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCC AACAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGAC TTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACA AGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGA ACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTC CCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTG CTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAAC CCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGC ATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCG CCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCT GGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCC

[1351]

[1352]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAG CGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACC TGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCC CCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATG GACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCT ACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGG AGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTA CGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCT GATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCC CGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGAC AAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGC TGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCT GTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCG GCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTG GAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACA AGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCG GCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAG CGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACG GCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGG AGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGA CGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCC CTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCG TGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGAT CCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAA GTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAA GCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGA GAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTC CCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGG ACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCA GCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAG ATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCT ACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTC CCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAG GTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAAC AAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCA ACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGG AGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTT CCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTG CAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAG TGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACC GGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACAT CCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGT GTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTG CTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGC GGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGG ACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGC CATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGG TACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGA

[1353]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGC ACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGA GTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTG TTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCG AGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGA CCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCC CGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTG TTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGT CCGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGC CAAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGAT CTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATC AAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACT ACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACG AGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACG GCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCA AGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCC AGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGA CCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGA AGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGA CATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTG GACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCG TGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAA CATCCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTAC CGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTC CCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAG AAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCC TACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCC GGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTC CAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAG AACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGA ACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCC GGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGUGA
211	Nme2Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框	ATGGCAGCATTCAAACCAAACCCAATCAACT ACATCCTAGGACTAGACATCGGAATCGCATCA GTAGGATGAGCAATGGTAGAAATCGACGAAG AAGAAAACCCAATCCGACTAATCGACCTAGG AGTACGAGTATTCGAACGAGCAGAAGTACCA AAAACAGGAGACTCACTAGCAATGGCACGA CGACTAGCACGATCAGTACGACGACTAACAC GACGACGAGCACACCGACTACTACGAGCAC GACGACTACTAAAACGAGAAGGAGTACTACA AGCAGCAGACTTCGACGAAAACGGACTAATC AAATCACTACCAAACACACCATGACAACTAC GAGCAGCAGCACTAGACCGAAAACTAACAC CACTAGAATGATCAGCAGTACTACTACACCTA ATCAAACACCGAGGATACCTATCACAACGAA AAAACGAAGGAGAAACAGCAGACAAAGAA CTAGGAGCACTACTAAAAGGAGTAGCAAACA

[1354]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACGCACACGCACTACAAACAGGAGACTTCCG AACACCAGCAGAACTAGCACTAAACAAATTC GAAAAAGAATCAGGACACATCCGAAACCAA CGAGGAGACTACTCACACACATTCTCACGAA AAGACCTACAAGCAGAACTAATCCTACTATTC GAAAAACAAAAAGAATTCGGAAACCCACAC GTATCAGGAGGACTAAAAGAAGGAATCGAA ACACTACTAATGACACAACGACCAGCACTAT CAGGAGACGCAGTACAAAAAATGCTAGGAC ACTGCACATTCGAACCAGCAGAACCAAAAG CAGCAAAAAACACATACACAGCAGAACGATT CATCTGACTAACAAAACTAAACAACCTACGA ATCCTAGAACAAGGATCAGAACGACCACTAA CAGACACAGAACGAGCAACACTAATGGACG AACCATACCGAAAATCAAAACTAACATACGC ACAAGCACGAAAACTACTAGGACTAGAAGA CACAGCATTCTTCAAAGGACTACGATACGGA AAAGACAACGCAGAAGCATCAACACTAATGG AAATGAAAGCATACCACGCAATCTCACGAGC ACTAGAAAAAGAAGGACTAAAAGACAAAAA ATCACCACTAAACCTATCATCAGAACTACAAG ACGAAATCGGAACAGCATTCTCACTATTCAA AACAGACGAAGACATCACAGGACGACTAAA AGACCGAGTACAACCAGAAATCCTAGAAGCA CTACTAAAACACATCTCATTCGACAAATTCGT ACAAATCTCACTAAAAGCACTACGACGAATC GTACCACTAATGGAACAAGGAAAACGATACG ACGAAGCATGCGCAGAAATCTACGGAGACCA CTACGGAAAAAAAAACACAGAAGAAAAAAT CTACCTACCACCAATCCCAGCAGACGAAATC CGAAACCCAGTAGTACTACGAGCACTATCAC AAGCACGAAAAGTAATCAACGGAGTAGTACG ACGATACGGATCACCAGCACGAATCCACATC GAAACAGCACGAGAAGTAGGAAAATCATTCA AAGACCGAAAAGAAATCGAAAAACGACAAG AAGAAAACCGAAAAGACCGAGAAAAAGCA GCAGCAAAATTCCGAGAATACTTCCCAAACT TCGTAGGAGAACCAAAATCAAAAGACATCCT AAAACTACGACTATACGAACAACAACACGGA AAATGCCTATACTCAGGAAAAGAAATCAACC TAGTACGACTAAACGAAAAAGGATACGTAGA AATCGACCACGCACTACCATTCTCACGAACAT GAGACGACTCATTCAACAACAAAGTACTAGT ACTAGGATCAGAAAACCAAAACAAAGGAAA CCAAACACCATACGAATACTTCAACGGAAAA GACAACTCACGAGAATGACAAGAATTCAAA GCACGAGTAGAAACATCACGATTCCCACGAT CAAAAAAACAACGAATCCTACTACAAAAATT

[1355]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGACGAAGACGGATTCAAAGAATGCAACCTA AACGACACACGATACGTAAACCGATTCCTATG CCAATTCGTAGCAGACCACATCCTACTAACAG GAAAAGGAAAACGACGAGTATTCGCATCAAA CGGACAAATCACAAACCTACTACGAGGATTC TGAGGACTACGAAAAGTACGAGCAGAAAAC GACCGACACCACGCACTAGACGCAGTAGTAG TAGCATGCTCAACAGTAGCAATGCAACAAAA AATCACACGATTCGTACGATACAAAGAAATG AACGCATTCGACGGAAAAACAATCGACAAA GAAACAGGAAAAGTACTACACCAAAAAACA CACTTCCCACAACCATGAGAATTCTTCGCAC AAGAAGTAATGATCCGAGTATTCGGAAAACC AGACGGAAAACCAGAATTCGAAGAAGCAGA CACACCAGAAAAACTACGAACACTACTAGCA GAAAAACTATCATCACGACCAGAAGCAGTAC ACGAATACGTAACACCACTATTCGTATCACGA GCACCAAACCGAAAAATGTCAGGAGCACAC AAAGACACACTACGATCAGCAAAACGATTCG TAAAACACAACGAAAAAATCTCAGTAAAACG AGTATGACTAACAGAAATCAAACTAGCAGAC CTAGAAAACATGGTAAACTACAAAAACGGAC GAGAAATCGAACTATACGAAGCACTAAAAGC ACGACTAGAAGCATACGGAGGAAACGCAAA ACAAGCATTCGACCCAAAAGACAACCCATTC TACAAAAAAGGAGGACAACTAGTAAAAGCA GTACGAGTAGAAAAAACACAAGAATCAGGA GTACTACTAAACAAAAAAAACGCATACACAA TCGCAGACAACGGAGACATGGTACGAGTAGA CGTATTCTGCAAAGTAGACAAAAAAGGAAAA AACCAATACTTCATCGTACCAATCTACGCATG ACAAGTAGCAGAAAACATCCTACCAGACATC GACTGCAAAGGATACCGAATCGACGACTCAT ACACATTCTGCTTCTCACTACACAAATACGAC CTAATCGCATTCCAAAAAGACGAAAAATCAA AAGTAGAATTCGCATACTACATCAACTGCGAC TCATCAAACGGACGATTCTACCTAGCATGACA CGACAAAGGATCAAAAGAACAACAATTCCG AATCTCAACACAAAACCTAGTACTAATCCAA AAATACCAAGTAAACGAACTAGGAAAAGAA ATCCGACCATGCCGACTAAAAAAACGACCAC CAGTACGAUAA
212	Nme3Cas9 裂解酶的示例性氨基酸序列	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEE NPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLAR SVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFD ENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV ADNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKECGHIRN

[1356]

SEQ ID NO	说明	序列
		QRGDYSHTFSRKDLQAELNLLFEKQKEFGNPH VSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHC TFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQ GSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLL SLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHTI SRALEKEGLKDKKSPLNLSPELQDEIGTAFSLF KTDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKFVQI SLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGK KNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVIN GVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKR QEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDIL KLRLYEQQHGKCLYSGKEINLGRLNEKGYVEI DHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQ TPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKK QRILLQKFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFV ADRMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGL RKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITR FVRYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRT LLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG QGHMETVKSAKRLDEGVSVLRVPLTQLKLKD LEKMVNREREPKLYEALKARLEAHKDDPAKA FAEPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGV WVRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYYLVPI YSWQVAKGILPDRAVVAYADEEDWTVIDESFR FKFVLYSNDLIKVQLKKDSFLGYFSGLDRATGA ISLREHDLEKSKGKDGMHRIGVKTALSFQKYQI DEMGKEIRPCRLKKRPPVR
213	编码 Nme3Cas9 裂解酶的示例性编码序列	GCTGCTTTTAAGCCTAATCCTATTAATTATATT CTTGGTCTTGATATTGGTATTGCTTCTGTTGGT TGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGGAGA ATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTCGTG TTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGACTGG TGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTGCTC GTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGTGCT CATCGTCTTCTTCGTGCTCGTCGTCTTCTTAA GCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTGATTTT GATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCCTAA TACTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTCTTG ATCGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCTGCT GTTCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGTTAT CTTTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGACTG CTGATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAGGGT GTTGCTGATAATGCTCATGCTCTTCAGACTGG TGATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTCTTA ATAAGTTTGAGAAGGAGTGTGGTCATATTCGT AATCAGCGTGGTGATTATTCTCATACTTTTTCT CGTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTAATCTTCT

[1357]

SEQ ID NO	说明	序列
		TTTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAATCCT CATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTATTGA GACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTCTTT CTGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGTCAT TGTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGCTG CTAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTATTT GGCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCTTG AGCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATACT GAGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTATCG TAAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCGTA AGCTTCTTTCTCTTGAGGATACTGCTTTTTTTA AGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCTGAG GCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTATCA TACTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGGGTC TTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTTTCT CCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGCTTT TTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTACTG GTCGTCTTAAGGATCGTATTCAGCCTGAGATT CTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTTGAT AAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCTTCG TCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTAAGC GTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTATGGT GATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGGAGA AGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATGAGA TTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTTCTC AGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTTCGT CGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATTGAG ACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTAAGG ATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGAGGA GAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCTGCT AAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTTGG TGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCTTC GTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTCTT TATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGGTCGTCT TAATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATCATG CTCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCTT TTAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGAG AATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATGA GTATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAGT GGCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTTC TCGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATTC TTCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAAG GAGCGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTAAT CGTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCGTATG CGTCTTACTGGTAAGGGTAAGAAGCGTGTTT TTGCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCTTC GTGGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTGCT GAGAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCTGT

[1358]

SEQ ID NO	说明	序列
		TGTTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCAGC AGAAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGGAG ATGAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGATAA GGAGACTGGTGAGGTTCTTCATCAGAAGACT CATTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCTCA GGAGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCCTG ATGGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGATAC TCCTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGAGA AGCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATGAG TATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTCCT AATCGTAAGATGTCTGGTCAGGGTCATATGGA GACTGTTAAGTCTGCTAAGCGTCTTGATGAG GGTGTTTCTGTTCTTCGTGTTCCTCTTACTCA GCTTAAGCTTAAGGATCTTGAGAAGATGGTTA ATCGTGAGCGTGAGCCTAAGCTTTATGAGGC TCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCTCATAAGGATG ATCCTGCTAAGGCTTTTGCTGAGCCTTTTTAT AAGTATGATAAGGCTGGTAATCGTACTCAGCA GGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGCAGGTTCAG AAGACTGGTGTTTGGGTTCGTAATCATAATGG TATTGCTGATAATGCTACTATGGTTCGTGTTGA TGTTTTTGAGAAGGGTGATAAGTATTATCTTG TTCCTATTTATTCTTGGCAGGTTGCTAAGGGT ATTCTTCCTGATCGTGCTGTTGTTGCTTATGCT GATGAGGAGGATTGGACTGTTATTGATGAGTC TTTTCGTTTTAAGTTTGTTCTTTATTCTAATGA TCTTATTAAGGTTCAGCTTAAGAAGGATTCTT TTCTTGGTTATTTTTCTGGTCTTGATCGTGCTA CTGGTGCTATTTCTCTTCGTGAGCATGATCTT GAGAAGTCTAAGGGTAAGGATGGTATGCATC GTATTGGTGTTAAGACTGCTCTTTCTTTTCAG AAGTATCAGATTGATGAGATGGGTAAGGAGA TTCGTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGTCCTCCT GTTCGT
214	编码 Nme3Cas9 裂解酶的示例性编码序列	GCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACA TCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGT GGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGA GGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGC GTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCC AAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGC GGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCG GCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCG GCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCA GGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATC AAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGC GGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCC CCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCT GATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGG

[1359]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAG CTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCGAC AACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCC GGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTT CGAGAAGGAGTGCGGCCACATCCGGAACCA GCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGG AAGGACCTGCAGGCCGAGCTGAACCTGCTGT TCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCC ACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCG AGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCT GTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGC CACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTT CATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGG ATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGA CCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACG AGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGC CCAGGCCCGGAAGCTGCTGTCCCTGGAGGAC ACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCA AGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGA GATGAAGGCCTACCACACCATCTCCCGGGCC CTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAG TCCCCCCTGAACCTGTCCCCCGAGCTGCAGG ACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAA GACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAA GGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTGGAGGCC CTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCG TGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGAT CGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTAC GACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACC ACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGA TCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATC CGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCC AGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGC GGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACAT CGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTT CAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCA GGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGG CCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAA CTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATC CTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACG GCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAA CCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT GGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGG ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGC TGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGG GCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGG CAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTT

[1360]

SEQ ID NO	说明	序列
		CAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCC CGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGCGGA ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGGATGCGG CTGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGTGTTC GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC ATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCTGCAC CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA GGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGAC CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC CGGCCAGGGCCACATGGAGACCGTGAAGTC CGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGTCCGT GCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAGCTG AAGGACCTGGAGAAGATGGTGAACCGGGAG CGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTGAAG GCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGACCCC GCCAAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACAAGT ACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGG TGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGCAGA AGACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACAACG GCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCGGGT GGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTACTAC CTGGTGCCCATCTACTCCTGGCAGGTGGCCA AGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGTGGC CTACGCCGACGAGGAGGACTGGACCGTGATC GACGAGTCCTTCCGGTTCAAGTTCGTGCTGT ACTCCAACGACCTGATCAAGGTGCAGCTGAA GAAGGACTCCTTCCTGGGCTACTTCTCCGGC CTGGACCGGGCCACCGGCGCCATCTCCCTGC GGGAGCACGACCTGGAGAAGTCCAAGGGCA AGGACGGCATGCACCGGATCGGCGTGAAGA CCGCCCTGTCCTTCCAGAAGTACCAGATCGA CGAGATGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGG CTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGG
215	编码 Nme3Cas9 裂解酶的示例性编码序列	GCAGCATTCAAACCAAACCCAATCAACTACA TCCTAGGACTAGACATCGGAATCGCATCAGTA GGATGAGCAATGGTAGAAATCGACGAAGAAG AAAACCCAATCCGACTAATCGACCTAGGAGT

[1361]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACGAGTATTCGAACGAGCAGAAGTACCAAAA ACAGGAGACTCACTAGCAATGGCACGACGAC TAGCACGATCAGTACGACGACTAACACGACG ACGAGCACACCGACTACTACGAGCACGACG ACTACTAAAACGAGAAGGAGTACTACAAGCA GCAGACTTCGACGAAAACGGACTAATCAAAT CACTACCAAACACACCATGACAACTACGAGC AGCAGCACTAGACCGAAAACTAACACCACTA GAATGATCAGCAGTACTACTACACCTAATCAA ACACCGAGGATACCTATCACAACGAAAAAAC GAAGGAGAAACAGCAGACAAAGAACTAGGA GCACTACTAAAAGGAGTAGCAGACAACGCAC ACGCACTACAAACAGGAGACTTCCGAACACC AGCAGAACTAGCACTAAACAAATTCGAAAAA GAATGCGGACACATCCGAAACCAACGAGGA GACTACTCACACACATTCTCACGAAAAGACC TACAAGCAGAACTAAACCTACTATTCGAAAA ACAAAAAGAATTCGGAAACCCACACGTATCA GGAGGACTAAAAGAAGGAATCGAAACACTA CTAATGACACAACGACCAGCACTATCAGGAG ACGCAGTACAAAAAATGCTAGGACACTGCAC ATTCGAACCAGCAGAACCAAAAGCAGCAAA AAACACATACACAGCAGAACGATTCATCTGA CTAACAAAACTAAACAACCTACGAATCCTAG AACAAGGATCAGAACGACCACTAACAGACA CAGAACGAGCAACACTAATGGACGAACCATA CCGAAAATCAAAACTAACATACGCACAAGCA CGAAAACTACTATCACTAGAAGACACAGCAT TCTTCAAAGGACTACGATACGGAAAAGACAA CGCAGAAGCATCAACACTAATGGAAATGAAA GCATACCACACAATCTCACGAGCACTAGAAA AAGAAGGACTAAAAGACAAAAAATCACCAC TAAACCTATCACCAGAACTACAAGACGAAAT CGGAACAGCATTCTCACTATTCAAAACAGAC GAAGACATCACAGGACGACTAAAAGACCGA ATCCAACCAGAAATCCTAGAAGCACTACTAA AACACATCTCATTCGACAAATTCGTACAAATC TCACTAAAAGCACTACGACGAATCGTACCAC TAATGGAACAAGGAAAACGATACGACGAAG CATGCGCAGAAATCTACGGAGACCACTACGG AAAAAAAAACACAGAAGAAAAAATCTACCT ACCACCAATCCCAGCAGACGAAATCCGAAAC CCAGTAGTACTACGAGCACTATCACAAGCAC GAAAAGTAATCAACGGAGTAGTACGACGATA CGGATCACCAGCACGAATCCACATCGAAACA GCACGAGAAGTAGGAAAATCATTCAAAGACC GAAAAGAAATCGAAAAACGACAAGAAGAAA ACCGAAAAGACCGAGAAAAAGCAGCAGCAA

[1362]

SEQ ID NO	说明	序列
		AATTCCGAGAATACTTCCCAAACTTCGTAGG AGAACCAAAATCAAAAGACATCCTAAAACTA CGACTATACGAACAACAACACGGAAAATGCC TATACTCAGGAAAAGAAATCAACCTAGGACG ACTAAACGAAAAAGGATACGTAGAAATCGAC CACGCACTACCATTCTCACGAACATGAGACG ACTCATTCAACAACAAAGTACTAGTACTAGG ATCAGAAAACCAAAACAAAGGAAACCAAAC ACCATACGAATACTTCAACGGAAAAGACAAC TCACGAGAATGACAAGAATTCAAAGCACGA GTAGAAACATCACGATTCCCACGATCAAAAA AACAACGAATCCTACTACAAAAATTCGACGA AGACGGATTCAAAGAACGAAACCTAAACGA CACACGATACGTAAACCGATTCCTATGCCAAT TCGTAGCAGACCGAATGCGACTAACAGGAAA AGGAAAAAAACGAGTATTCGCATCAAACGGA CAAATCACAAACCTACTACGAGGATTCTGAG GACTACGAAAAGTACGAGCAGAAAACGACC GACACCACGCACTAGACGCAGTAGTAGTAGC ATGCTCAACAGTAGCAATGCAACAAAAAATC ACACGATTCGTACGATACAAAGAAATGAACG CATTCGACGGAAAAACAATCGACAAAGAAA CAGGAGAAGTACTACACCAAAAAACACACTT CCCACAACCATGAGAATTCTTCGCACAAGAA GTAATGATCCGAGTATTCGGAAAACCAGACG GAAAACCAGAATTCGAAGAAGCAGACACAC CAGAAAAACTACGAACACTACTAGCAGAAA AACTATCATCACGACCAGAAGCAGTACACGA ATACGTAACACCACTATTCGTATCACGAGCAC CAAACCGAAAAATGTCAGGACAAGGACACA TGGAAACAGTAAAATCAGCAAAACGACTAG ACGAAGGAGTATCAGTACTACGAGTACCACT AACACAACTAAAACTAAAAGACCTAGAAAA AATGGTAAACCGAGAACGAGAACCAAAACT ATACGAAGCACTAAAAGCACGACTAGAAGCA CACAAAGACGACCCAGCAAAAGCATTCGCA GAACCATTCTACAAATACGACAAAGCAGGAA ACCGAACACAACAAGTAAAAGCAGTACGAG TAGAACAAGTACAAAAAACAGGAGTATGAGT ACGAAACCACAACGGAATCGCAGACAACGC AACAATGGTACGAGTAGACGTATTCGAAAAA GGAGACAAATACTACCTAGTACCAATCTACTC ATGACAAGTAGCAAAAGGAATCCTACCAGAC CGAGCAGTAGTAGCATACGCAGACGAAGAAG ACTGAACAGTAATCGACGAATCATTCCGATTC AAATTCGTACTATACTCAAACGACCTAATCAA AGTACAACTAAAAAAAGACTCATTCCTAGGA TACTTCTCAGGACTAGACCGAGCAACAGGAG

[1363]

SEQ ID NO	说明	序列
		CAATCTCACTACGAGAACACGACCTAGAAAA ATCAAAAGGAAAAGACGGAATGCACCGAAT CGGAGTAAAAACAGCACTATCATTCCAAAAA TACCAAATCGACGAAATGGGAAAAGAAATCC GACCATGCCGACTAAAAAAACGACCACCAGT ACGA
216	Nme3Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框	ATGGCTGCTTTTAAGCCTAATCCTATTAATTAT ATTCTTGGTCTTGATATTGGTATTGCTTCTGTT GGTTGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGG AGAATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTC GTGTTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGAC TGGTGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTG CTCGTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGT GCTCATCGTCTTCTTCGTGCTCGTCGTCTTCT TAAGCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTGAT TTTGATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCC TAATACTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTC TTGATCGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCT GCTGTTCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGT TATCTTTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGA CTGCTGATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAG GGTGTTGCTGATAATGCTCATGCTCTTCAGAC TGGTGATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTC TTAATAAGTTTGAGAAGGAGTGTGGTCATATT CGTAATCAGCGTGGTGATTATTCTCATACTTTT TCTCGTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTAATCT TCTTTTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAAT CCTCATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTAT TGAGACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTC TTTCTGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGT CATTGTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGC TGCTAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTAT TTGGCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCT TGAGCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATA CTGAGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTAT CGTAAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCG TAAGCTTCTTTCTCTTGAGGATACTGCTTTTTT TAAGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCTG AGGCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTAT CATACTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGGG TCTTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTTT CTCCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGCT TTTTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTACT GGTCGTCTTAAGGATCGTATTCAGCCTGAGAT TCTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTTGA TAAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCTTC GTCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTAAG CGTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTATGG

[1364]

SEQ ID NO	说明	序列
		TGATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGGAG AAGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATGAG ATTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTTCT CAGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTTCG TCGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATTGA GACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTAAG GATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGAGG AGAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCTGC TAAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTTGG TGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCTTC GTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTCTT TATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGGTCGTCT TAATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATCATG CTCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCTT TTAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGAG AATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATGA GTATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAGT GGCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTTC TCGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATTC TTCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAAG GAGCGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTAAT CGTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCGTATG CGTCTTACTGGTAAGGGTAAGAAGCGTGTTT TTGCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCTTC GTGGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTGCT GAGAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCTGT TGTTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCAGC AGAAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGGAG ATGAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGATAA GGAGACTGGTGAGGTTCTTCATCAGAAGACT CATTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCTCA GGAGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCCTG ATGGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGATAC TCCTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGAGA AGCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATGAG TATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTCCT AATCGTAAGATGTCTGGTCAGGGTCATATGGA GACTGTTAAGTCTGCTAAGCGTCTTGATGAG GGTGTTTCTGTTCTTCGTGTTCCTCTTACTCA GCTTAAGCTTAAGGATCTTGAGAAGATGGTTA ATCGTGAGCGTGAGCCTAAGCTTTATGAGGC TCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCTCATAAGGATG ATCCTGCTAAGGCTTTTGCTGAGCCTTTTTAT AAGTATGATAAGGCTGGTAATCGTACTCAGCA GGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGCAGGTTCAG AAGACTGGTGTTTGGGTTCGTAATCATAATGG TATTGCTGATAATGCTACTATGGTTCGTGTTGA TGTTTTTGAGAAGGGTGATAAGTATTATCTTG

[1365]

SEQ ID NO	说明	序列
		TTCCTATTTATTCTTGGCAGGTTGCTAAGGGT ATTCTTCCTGATCGTGCTGTTGTTGCTTATGCT GATGAGGAGGATTGGACTGTTATTGATGAGTC TTTTCGTTTTAAGTTTGTTCTTTATTCTAATGA TCTTATTAAGGTTCAGCTTAAGAAGGATTCTT TTCTTGGTTATTTTTCTGGTCTTGATCGTGCTA CTGGTGCTATTTCTCTTCGTGAGCATGATCTT GAGAAGTCTAAGGGTAAGGATGGTATGCATC GTATTGGTGTTAAGACTGCTCTTTCTTTTCAG AAGTATCAGATTGATGAGATGGGTAAGGAGA TTCGTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGTCCTCCT GTTCGTUGA
217	Nme3Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACT ACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTC CGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAG GAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGG GCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGC CCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCG GCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACC CGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCC CGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTG CAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTG ATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGC TGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGA CCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCA CCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAG CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG GAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCC GACAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGAC TTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACA AGTTCGAGAAGGAGTGCGGCCACATCCGGA ACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTC CCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGAACCT GCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAA CCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGG CATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCC GCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGC TGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCC CAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGA GCGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAAC CTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGC CCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGAT GGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACC TACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGTCCCTGG AGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTA CGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCT GATGGAGATGAAGGCCTACCACACCATCTCC CGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGAC

[1366]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCCCCGAGC TGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCT GTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCG GCTGAAGGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTG GAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACA AGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCG GCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAG CGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACG GCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGG AGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGA CGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCC CTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCG TGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGAT CCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAA GTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAA GCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGA GAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTC CCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGG ACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCA GCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAG ATCAACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGC TACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCT CCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAA GGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAA CAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTC AACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAG GAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGT TCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCT GCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGA GCGGAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAA CCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGG ATGCGGCTGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGG GTGTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACC TGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGT GCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCT GGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTG GCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGC GGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAA GACCATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCT GCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGG GAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGG TGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTT CGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCG GACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGG CCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCC TGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAT GTCCGGCCAGGGCCACATGGAGACCGTGAA GTCCGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGTC

[1367]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGTGCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAG CTGAAGGACCTGGAGAAGATGGTGAACCGG GAGCGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTG AAGGCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGAC CCCGCCAAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACA AGTACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGC AGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGC AGAAGACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACA ACGGCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCG GGTGGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTA CTACCTGGTGCCCATCTACTCCTGGCAGGTGG CCAAGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGT GGCCTACGCCGACGAGGAGGACTGGACCGT GATCGACGAGTCCTTCCGGTTCAAGTTCGTG CTGTACTCCAACGACCTGATCAAGGTGCAGC TGAAGAAGGACTCCTTCCTGGGCTACTTCTC CGGCCTGGACCGGGCCACCGGCGCCATCTCC CTGCGGGAGCACGACCTGGAGAAGTCCAAG GGCAAGGACGGCATGCACCGGATCGGCGTG AAGACCGCCCTGTCCTTCCAGAAGTACCAGA TCGACGAGATGGGCAAGGAGATCCGGCCCTG CCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGUG A
218	Nme3Cas9 裂解酶的示例性开放阅读框	ATGGCAGCATTCAAACCAAACCCAATCAACT ACATCCTAGGACTAGACATCGGAATCGCATCA GTAGGATGAGCAATGGTAGAAATCGACGAAG AAGAAAACCCAATCCGACTAATCGACCTAGG AGTACGAGTATTCGAACGAGCAGAAGTACCA AAAACAGGAGACTCACTAGCAATGGCACGA CGACTAGCACGATCAGTACGACGACTAACAC GACGACGAGCACACCGACTACTACGAGCAC GACGACTACTAAAACGAGAAGGAGTACTACA AGCAGCAGACTTCGACGAAAACGGACTAATC AAATCACTACCAAACACACCATGACAACTAC GAGCAGCAGCACTAGACCGAAAACTAACAC CACTAGAATGATCAGCAGTACTACTACACCTA ATCAAACACCGAGGATACCTATCACAACGAA AAAACGAAGGAGAAACAGCAGACAAAGAA CTAGGAGCACTACTAAAAGGAGTAGCAGACA ACGCACACGCACTACAAACAGGAGACTTCCG AACACCAGCAGAACTAGCACTAAACAAATTC GAAAAAGAATGCGGACACATCCGAAACCAA CGAGGAGACTACTCACACACATTCTCACGAA AAGACCTACAAGCAGAACTAAACCTACTATT CGAAAAACAAAAAGAATTCGGAAACCCACA CGTATCAGGAGGACTAAAAGAAGGAATCGAA ACACTACTAATGACACAACGACCAGCACTAT CAGGAGACGCAGTACAAAAAATGCTAGGAC

[1368]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACTGCACATTCGAACCAGCAGAACCAAAAG
		CAGCAAAAAACACATACACAGCAGAACGATT
		CATCTGACTAACAAAACTAAACAACCTACGA
		ATCCTAGAACAAGGATCAGAACGACCACTAA
		CAGACACAGAACGAGCAACACTAATGGACG
		AACCATACCGAAAATCAAAACTAACATACGC
		ACAAGCACGAAAACTACTATCACTAGAAGAC
		ACAGCATTCTTCAAAGGACTACGATACGGAA
		AAGACAACGCAGAAGCATCAACACTAATGGA
		AATGAAAGCATACCACACAATCTCACGAGCA
		CTAGAAAAAGAAGGACTAAAAGACAAAAAA
		TCACCACTAAACCTATCACCAGAACTACAAG
		ACGAAATCGGAACAGCATTCTCACTATTCAA
		AACAGACGAAGACATCACAGGACGACTAAA
		AGACCGAATCCAACCAGAAATCCTAGAAGCA
		CTACTAAAACACATCTCATTCGACAAATTCGT
		ACAAATCTCACTAAAAGCACTACGACGAATC
		GTACCACTAATGGAACAAGGAAAACGATACG
		ACGAAGCATGCGCAGAAATCTACGGAGACCA
		CTACGGAAAAAAAAACACAGAAGAAAAAAT
		CTACCTACCACCAATCCCAGCAGACGAAATC
		CGAAACCCAGTAGTACTACGAGCACTATCAC
		AAGCACGAAAAGTAATCAACGGAGTAGTACG
		ACGATACGGATCACCAGCACGAATCCACATC
		GAAACAGCACGAGAAGTAGGAAAATCATTCA
		AAGACCGAAAAGAAATCGAAAAACGACAAG
		AAGAAAACCGAAAAGACCGAGAAAAAGCA
		GCAGCAAAATTCCGAGAATACTTCCCAAACT
		TCGTAGGAGAACCAAAATCAAAAGACATCCT
		AAAACTACGACTATACGAACAACAACACGGA
		AAATGCCTATACTCAGGAAAAGAAATCAACC
		TAGGACGACTAAACGAAAAAGGATACGTAGA
		AATCGACCACGCACTACCATTCTCACGAACAT
		GAGACGACTCATTCAACAACAAAGTACTAGT
		ACTAGGATCAGAAAACCAAAACAAAGGAAA
		CCAAACACCATACGAATACTTCAACGGAAAA
		GACAACTCACGAGAATGACAAGAATTCAAA
		GCACGAGTAGAAACATCACGATTCCCACGAT
		CAAAAAAACAACGAATCCTACTACAAAAATT
		CGACGAAGACGGATTCAAAGAACGAAACCT
		AAACGACACACGATACGTAAACCGATTCCTAT
		GCCAATTCGTAGCAGACCGAATGCGACTAAC
		AGGAAAAGGAAAAAAACGAGTATTCGCATC
		AAACGGACAAATCACAAACCTACTACGAGGA
		TTCTGAGGACTACGAAAAGTACGAGCAGAA
		AACGACCGACACCACGCACTAGACGCAGTA
		GTAGTAGCATGCTCAACAGTAGCAATGCAAC
		AAAAAATCACACGATTCGTACGATACAAAGA

[1369]

SEQ ID NO	说明	序列
		AATGAACGCATTCGACGGAAAAACAATCGAC AAAGAAACAGGAGAAGTACTACACCAAAAA ACACACTTCCCACAACCATGAGAATTCTTCG CACAAGAAGTAATGATCCGAGTATTCGGAAA ACCAGACGGAAAACCAGAATTCGAAGAAGC AGACACACCAGAAAAACTACGAACACTACTA GCAGAAAAACTATCATCACGACCAGAAGCAG TACACGAATACGTAACACCACTATTCGTATCA CGAGCACCAAACCGAAAAATGTCAGGACAA GGACACATGGAAACAGTAAAATCAGCAAAA CGACTAGACGAAGGAGTATCAGTACTACGAG TACCACTAACACAACTAAAACTAAAAGACCT AGAAAAAATGGTAAACCGAGAACGAGAACC AAAACTATACGAAGCACTAAAAGCACGACTA GAAGCACACAAAGACGACCCAGCAAAAGCA TTCGCAGAACCATTCTACAAATACGACAAAG CAGGAAACCGAACACAACAAGTAAAAGCAG TACGAGTAGAACAAGTACAAAAAACAGGAG TATGAGTACGAAACCACAACGGAATCGCAGA CAACGCAACAATGGTACGAGTAGACGTATTC GAAAAAGGAGACAAATACTACCTAGTACCAA TCTACTCATGACAAGTAGCAAAAGGAATCCT ACCAGACCGAGCAGTAGTAGCATACGCAGAC GAAGAAGACTGAACAGTAATCGACGAATCAT TCCGATTCAAATTCGTACTATACTCAAACGAC CTAATCAAAGTACAACTAAAAAAAGACTCAT TCCTAGGATACTTCTCAGGACTAGACCGAGC AACAGGAGCAATCTCACTACGAGAACACGAC CTAGAAAAATCAAAAGGAAAAGACGGAATG CACCGAATCGGAGTAAAAACAGCACTATCAT TCCAAAAATACCAAATCGACGAAATGGGAAA AGAAATCCGACCATGCCGACTAAAAAAACGA CCACCAGTACGAUAA
219	Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性氨基酸序列	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEE NPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLAR SVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFD ENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV ADNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKECGHIRN QRGDYSHTFSRKDLQAELNLLFEKQKEFGNPH VSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHC TFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQ GSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLL SLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHTI SRALEKEGLKDKKSPLNLSPELQDEIGTAFSLF KTDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKFVQI SLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGK KNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVIN

[1370]

SEQ ID NO	说明	序列
		GVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKR QEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDIL KLRLYEQQHGKCLYSGKEINLGRLNEKGYVEI DAALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQ TPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKK QRILLQKFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFV ADRMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGL RKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITR FVRYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRT LLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG QGHMETVKSAKRLDEGVSVLRVPLTQLKLKD LEKMVNREREPKLYEALKARLEAHKDDPAKA FAEPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGV WVRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYYLVPI YSWQVAKGILPDRAVVAYADEEDWTVIDESFR FKFVLYSNDLIKVQLKKDSFLGYFSGLDRATGA ISLREHDLEKSKGKDGMHRIGVKTALSFQKYQI DEMGKEIRPCRLKKRPPVR
220	编码 Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性编码序列	GCTGCTTTTAAGCCTAATCCTATTAATTATATT CTTGGTCTTGATATTGGTATTGCTTCTGTTGGT TGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGGAGA ATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTCGTG TTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGACTGG TGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTGCTC GTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGTGCT CATCGTCTTCTTCGTGCTCGTCGTCTTCTTAA GCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTGATTTT GATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCCTAA TACTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTCTTG ATCGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCTGCT GTTCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGTTAT CTTTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGACTG CTGATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAGGGT GTTGCTGATAATGCTCATGCTCTTCAGACTGG TGATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTCTTA ATAAGTTTGAGAAGGAGTGTGGTCATATTCGT AATCAGCGTGGTGATTATTCTCATACTTTTTCT CGTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTAATCTTCT TTTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAATCCT CATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTATTGA GACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTCTTT CTGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGTCAT TGTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGCTG CTAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTATTT GGCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCTTG AGCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATACT GAGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTATCG

[1371]

SEQ ID NO	说明	序列
		TAAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCGTA AGCTTCTTTCTCTTGAGGATACTGCTTTTTTTA AGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCTGAG GCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTATCA TACTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGGGTC TTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTTTCT CCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGCTTT TTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTACTG GTCGTCTTAAGGATCGTATTCAGCCTGAGATT CTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTTGAT AAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCTTCG TCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTAAGC GTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTATGGT GATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGGAGA AGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATGAGA TTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTTCTC AGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTTCGT CGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATTGAG ACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTAAGG ATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGAGGA GAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCTGCT AAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTTGG TGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCTTC GTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTCTT TATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGGTCGTCT TAATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATGCTG CTCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCTT TTAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGAG AATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATGA GTATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAGT GGCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTTC TCGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATTC TTCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAAG GAGCGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTAAT CGTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCGTATG CGTCTTACTGGTAAGGGTAAGAAGCGTGTTT TTGCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCTTC GTGGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTGCT GAGAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCTGT TGTTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCAGC AGAAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGGAG ATGAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGATAA GGAGACTGGTGAGGTTCTTCATCAGAAGACT CATTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCTCA GGAGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCCTG ATGGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGATAC TCCTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGAGA AGCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATGAG

[1372]

SEQ ID NO	说明	序列
		TATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTCCT AATCGTAAGATGTCTGGTCAGGGTCATATGGA GACTGTTAAGTCTGCTAAGCGTCTTGATGAG GGTGTTTCTGTTCTTCGTGTTCCTCTTACTCA GCTTAAGCTTAAGGATCTTGAGAAGATGGTTA ATCGTGAGCGTGAGCCTAAGCTTTATGAGGC TCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCTCATAAGGATG ATCCTGCTAAGGCTTTTGCTGAGCCTTTTTAT AAGTATGATAAGGCTGGTAATCGTACTCAGCA GGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGCAGGTTCAG AAGACTGGTGTTTGGGTTCGTAATCATAATGG TATTGCTGATAATGCTACTATGGTTCGTGTTGA TGTTTTTGAGAAGGGTGATAAGTATTATCTTG TTCCTATTTATTCTTGGCAGGTTGCTAAGGGT ATTCTTCCTGATCGTGCTGTTGTTGCTTATGCT GATGAGGAGGATTGGACTGTTATTGATGAGTC TTTTCGTTTTAAGTTTGTTCTTTATTCTAATGA TCTTATTAAGGTTCAGCTTAAGAAGGATTCTT TTCTTGGTTATTTTTCTGGTCTTGATCGTGCTA CTGGTGCTATTTCTCTTCGTGAGCATGATCTT GAGAAGTCTAAGGGTAAGGATGGTATGCATC GTATTGGTGTTAAGACTGCTCTTTCTTTTCAG AAGTATCAGATTGATGAGATGGGTAAGGAGA TTCGTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGTCCTCCT GTTCGT
221	编码 Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性编码序列	GCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACA TCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGT GGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGA GGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGC GTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCC AAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGC GGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCG GCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCG GCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCA GGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATC AAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGC GGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCC CCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCT GATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGG AAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAG CTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCGAC AACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCC GGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTT CGAGAAGGAGTGCGGCCACATCCGGAACCA GCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGG AAGGACCTGCAGGCCGAGCTGAACCTGCTGT TCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCC ACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCG

[1373]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCT GTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGC CACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTT CATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGG ATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGA CCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACG AGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGC CCAGGCCCGGAAGCTGCTGTCCCTGGAGGAC ACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCA AGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGA GATGAAGGCCTACCACACCATCTCCCGGGCC CTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAG TCCCCCCTGAACCTGTCCCCCGAGCTGCAGG ACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAA GACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAA GGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTGGAGGCC CTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCG TGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGAT CGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTAC GACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACC ACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGA TCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATC CGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCC AGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGC GGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACAT CGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTT CAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCA GGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGG CCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAA CTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATC CTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACG GCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAA CCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGT GGAGATCGACGCCGCCCTGCCCTTCTCCCGG ACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGC TGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGG GCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGG CAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTT CAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCC CGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGA AGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGCGGA ACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTT CCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGGATGCGG CTGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGTGTTC GCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGC GGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACG

[1374]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCAT GCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTAC AAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACC ATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCTGCAC CAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGT TCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTT CGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGA GGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGAC CCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCC GAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGT TCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC CGGCCAGGGCCACATGGAGACCGTGAAGTC CGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGTCCGT GCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAGCTG AAGGACCTGGAGAAGATGGTGAACCGGGAG CGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTGAAG GCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGACCCC GCCAAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACAAGT ACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGG TGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGCAGA AGACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACAACG GCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCGGGT GGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTACTAC CTGGTGCCCATCTACTCCTGGCAGGTGGCCA AGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGTGGC CTACGCCGACGAGGAGGACTGGACCGTGATC GACGAGTCCTTCCGGTTCAAGTTCGTGCTGT ACTCCAACGACCTGATCAAGGTGCAGCTGAA GAAGGACTCCTTCCTGGGCTACTTCTCCGGC CTGGACCGGGCCACCGGCGCCATCTCCCTGC GGGAGCACGACCTGGAGAAGTCCAAGGGCA AGGACGGCATGCACCGGATCGGCGTGAAGA CCGCCCTGTCCTTCCAGAAGTACCAGATCGA CGAGATGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGG CTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGG
222	编码 Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性编码序列	GCAGCATTCAAACCAAACCCAATCAACTACA TCCTAGGACTAGACATCGGAATCGCATCAGTA GGATGAGCAATGGTAGAAATCGACGAAGAAG AAAACCCAATCCGACTAATCGACCTAGGAGT ACGAGTATTCGAACGAGCAGAAGTACCAAAA ACAGGAGACTCACTAGCAATGGCACGACGAC TAGCACGATCAGTACGACGACTAACACGACG ACGAGCACACCGACTACTACGAGCACGACG ACTACTAAAACGAGAAGGAGTACTACAAGCA GCAGACTTCGACGAAAACGGACTAATCAAAT CACTACCAAACACACCATGACAACTACGAGC AGCAGCACTAGACCGAAAACTAACACCACTA GAATGATCAGCAGTACTACTACACCTAATCAA

[1375]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACACCGAGGATACCTATCACAACGAAAAAAC
		GAAGGAGAAACAGCAGACAAAGAACTAGGA
		GCACTACTAAAAGGAGTAGCAGACAACGCAC
		ACGCACTACAAACAGGAGACTTCCGAACACC
		AGCAGAACTAGCACTAAACAAATTCGAAAAA
		GAATGCGGACACATCCGAAACCAACGAGGA
		GACTACTCACACACATTCTCACGAAAAGACC
		TACAAGCAGAACTAAACCTACTATTCGAAAA
		ACAAAAAGAATTCGGAAACCCACACGTATCA
		GGAGGACTAAAAGAAGGAATCGAAACACTA
		CTAATGACACAACGACCAGCACTATCAGGAG
		ACGCAGTACAAAAAATGCTAGGACACTGCAC
		ATTCGAACCAGCAGAACCAAAAGCAGCAAA
		AAACACATACACAGCAGAACGATTCATCTGA
		CTAACAAAACTAAACAACCTACGAATCCTAG
		AACAAGGATCAGAACGACCACTAACAGACA
		CAGAACGAGCAACACTAATGGACGAACCATA
		CCGAAAATCAAAACTAACATACGCACAAGCA
		CGAAAACTACTATCACTAGAAGACACAGCAT
		TCTTCAAAGGACTACGATACGGAAAAGACAA
		CGCAGAAGCATCAACACTAATGGAAATGAAA
		GCATACCACACAATCTCACGAGCACTAGAAA
		AAGAAGGACTAAAAGACAAAAAATCACCAC
		TAAACCTATCACCAGAACTACAAGACGAAAT
		CGGAACAGCATTCTCACTATTCAAAACAGAC
		GAAGACATCACAGGACGACTAAAAGACCGA
		ATCCAACCAGAAATCCTAGAAGCACTACTAA
		AACACATCTCATTCGACAAATTCGTACAAATC
		TCACTAAAAGCACTACGACGAATCGTACCAC
		TAATGGAACAAGGAAAACGATACGACGAAG
		CATGCGCAGAAATCTACGGAGACCACTACGG
		AAAAAAAAACACAGAAGAAAAAATCTACCT
		ACCACCAATCCCAGCAGACGAAATCCGAAAC
		CCAGTAGTACTACGAGCACTATCACAAGCAC
		GAAAAGTAATCAACGGAGTAGTACGACGATA
		CGGATCACCAGCACGAATCCACATCGAAACA
		GCACGAGAAGTAGGAAAATCATTCAAAGACC
		GAAAAGAAATCGAAAAACGACAAGAAGAAA
		ACCGAAAAGACCGAGAAAAAGCAGCAGCAA
		AATTCCGAGAATACTTCCCAAACTTCGTAGG
		AGAACCAAAATCAAAAGACATCCTAAAACTA
		CGACTATACGAACAACAACACGGAAAATGCC
		TATACTCAGGAAAAGAAATCAACCTAGGACG
		ACTAAACGAAAAAGGATACGTAGAAATCGAC
		GCAGCACTACCATTCTCACGAACATGAGACG
		ACTCATTCAACAACAAAGTACTAGTACTAGG
		ATCAGAAAACCAAAACAAAGGAAACCAAAC
		ACCATACGAATACTTCAACGGAAAAGACAAC

[1376]

SEQ ID NO	说明	序列
		TCACGAGAATGACAAGAATTCAAAGCACGA GTAGAAACATCACGATTCCCACGATCAAAAA AACAACGAATCCTACTACAAAAATTCGACGA AGACGGATTCAAAGAACGAAACCTAAACGA CACACGATACGTAAACCGATTCCTATGCCAAT TCGTAGCAGACCGAATGCGACTAACAGGAAA AGGAAAAAAACGAGTATTCGCATCAAACGGA CAAATCACAAACCTACTACGAGGATTCTGAG GACTACGAAAAGTACGAGCAGAAAACGACC GACACCACGCACTAGACGCAGTAGTAGTAGC ATGCTCAACAGTAGCAATGCAACAAAAAATC ACACGATTCGTACGATACAAAGAAATGAACG CATTCGACGGAAAAACAATCGACAAAGAAA CAGGAGAAGTACTACACCAAAAAACACACTT CCCACAACCATGAGAATTCTTCGCACAAGAA GTAATGATCCGAGTATTCGGAAAACCAGACG GAAAACCAGAATTCGAAGAAGCAGACACAC CAGAAAAACTACGAACACTACTAGCAGAAA AACTATCATCACGACCAGAAGCAGTACACGA ATACGTAACACCACTATTCGTATCACGAGCAC CAAACCGAAAAATGTCAGGACAAGGACACA TGGAAACAGTAAAATCAGCAAAACGACTAG ACGAAGGAGTATCAGTACTACGAGTACCACT AACACAACTAAAACTAAAAGACCTAGAAAA AATGGTAAACCGAGAACGAGAACCAAAACT ATACGAAGCACTAAAAGCACGACTAGAAGCA CACAAAGACGACCCAGCAAAAGCATTCGCA GAACCATTCTACAAATACGACAAAGCAGGAA ACCGAACACAACAAGTAAAAGCAGTACGAG TAGAACAAGTACAAAAAACAGGAGTATGAGT ACGAAACCACAACGGAATCGCAGACAACGC AACAATGGTACGAGTAGACGTATTCGAAAAA GGAGACAAATACTACCTAGTACCAATCTACTC ATGACAAGTAGCAAAAGGAATCCTACCAGAC CGAGCAGTAGTAGCATACGCAGACGAAGAAG ACTGAACAGTAATCGACGAATCATTCCGATTC AAATTCGTACTATACTCAAACGACCTAATCAA AGTACAACTAAAAAAAGACTCATTCCTAGGA TACTTCTCAGGACTAGACCGAGCAACAGGAG CAATCTCACTACGAGAACACGACCTAGAAAA ATCAAAAGGAAAAGACGGAATGCACCGAAT CGGAGTAAAAACAGCACTATCATTCCAAAAA TACCAAATCGACGAAATGGGAAAAGAAATCC GACCATGCCGACTAAAAAAACGACCACCAGT ACGA
223	Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性开放	ATGGCTGCTTTTAAGCCTAATCCTATTAATTAT ATTCTTGGTCTTGATATTGGTATTGCTTCTGTT GGTTGGGCTATGGTTGAGATTGATGAGGAGG

[1377]

SEQ ID NO	说明	序列
	阅读框	AGAATCCTATTCGTCTTATTGATCTTGGTGTTC GTGTTTTTGAGCGTGCTGAGGTTCCTAAGAC TGGTGATTCTCTTGCTATGGCTCGTCGTCTTG CTCGTTCTGTTCGTCGTCTTACTCGTCGTCGT GCTCATCGTCTTCTTCGTGCTCGTCGTCTTCT TAAGCGTGAGGGTGTTCTTCAGGCTGCTGAT TTTGATGAGAATGGTCTTATTAAGTCTCTTCC TAATACTCCTTGGCAGCTTCGTGCTGCTGCTC TTGATCGTAAGCTTACTCCTCTTGAGTGGTCT GCTGTTCTTCTTCATCTTATTAAGCATCGTGGT TATCTTTCTCAGCGTAAGAATGAGGGTGAGA CTGCTGATAAGGAGCTTGGTGCTCTTCTTAAG GGTGTTGCTGATAATGCTCATGCTCTTCAGAC TGGTGATTTTCGTACTCCTGCTGAGCTTGCTC TTAATAAGTTTGAGAAGGAGTGTGGTCATATT CGTAATCAGCGTGGTGATTATTCTCATACTTTT TCTCGTAAGGATCTTCAGGCTGAGCTTAATCT TCTTTTTGAGAAGCAGAAGGAGTTTGGTAAT CCTCATGTTTCTGGTGGTCTTAAGGAGGGTAT TGAGACTCTTCTTATGACTCAGCGTCCTGCTC TTTCTGGTGATGCTGTTCAGAAGATGCTTGGT CATTGTACTTTTGAGCCTGCTGAGCCTAAGGC TGCTAAGAATACTTATACTGCTGAGCGTTTTAT TTGGCTTACTAAGCTTAATAATCTTCGTATTCT TGAGCAGGGTTCTGAGCGTCCTCTTACTGATA CTGAGCGTGCTACTCTTATGGATGAGCCTTAT CGTAAGTCTAAGCTTACTTATGCTCAGGCTCG TAAGCTTCTTTCTCTTGAGGATACTGCTTTTTT TAAGGGTCTTCGTTATGGTAAGGATAATGCTG AGGCTTCTACTCTTATGGAGATGAAGGCTTAT CATACTATTTCTCGTGCTCTTGAGAAGGAGGG TCTTAAGGATAAGAAGTCTCCTCTTAATCTTT CTCCTGAGCTTCAGGATGAGATTGGTACTGCT TTTTCTCTTTTTAAGACTGATGAGGATATTACT GGTCGTCTTAAGGATCGTATTCAGCCTGAGAT TCTTGAGGCTCTTCTTAAGCATATTTCTTTTGA TAAGTTTGTTCAGATTTCTCTTAAGGCTCTTC GTCGTATTGTTCCTCTTATGGAGCAGGGTAAG CGTTATGATGAGGCTTGTGCTGAGATTTATGG TGATCATTATGGTAAGAAGAATACTGAGGAG AAGATTTATCTTCCTCCTATTCCTGCTGATGAG ATTCGTAATCCTGTTGTTCTTCGTGCTCTTTCT CAGGCTCGTAAGGTTATTAATGGTGTTGTTCG TCGTTATGGTTCTCCTGCTCGTATTCATATTGA GACTGCTCGTGAGGTTGGTAAGTCTTTTAAG GATCGTAAGGAGATTGAGAAGCGTCAGGAGG AGAATCGTAAGGATCGTGAGAAGGCTGCTGC TAAGTTTCGTGAGTATTTTCCTAATTTTGTTGG

[1378]

SEQ ID NO	说明	序列
		TGAGCCTAAGTCTAAGGATATTCTTAAGCTTC GTCTTTATGAGCAGCAGCATGGTAAGTGTCTT TATTCTGGTAAGGAGATTAATCTTGGTCGTCT TAATGAGAAGGGTTATGTTGAGATTGATGCTG CTCTTCCTTTTTCTCGTACTTGGGATGATTCTT TTAATAATAAGGTTCTTGTTCTTGGTTCTGAG AATCAGAATAAGGGTAATCAGACTCCTTATGA GTATTTTAATGGTAAGGATAATTCTCGTGAGT GGCAGGAGTTTAAGGCTCGTGTTGAGACTTC TCGTTTTCCTCGTTCTAAGAAGCAGCGTATTC TTCTTCAGAAGTTTGATGAGGATGGTTTTAAG GAGCGTAATCTTAATGATACTCGTTATGTTAAT CGTTTTCTTTGTCAGTTTGTTGCTGATCGTATG CGTCTTACTGGTAAGGGTAAGAAGCGTGTTT TTGCTTCTAATGGTCAGATTACTAATCTTCTTC GTGGTTTTTGGGGTCTTCGTAAGGTTCGTGCT GAGAATGATCGTCATCATGCTCTTGATGCTGT TGTTGTTGCTTGTTCTACTGTTGCTATGCAGC AGAAGATTACTCGTTTTGTTCGTTATAAGGAG ATGAATGCTTTTGATGGTAAGACTATTGATAA GGAGACTGGTGAGGTTCTTCATCAGAAGACT CATTTTCCTCAGCCTTGGGAGTTTTTTGCTCA GGAGGTTATGATTCGTGTTTTTGGTAAGCCTG ATGGTAAGCCTGAGTTTGAGGAGGCTGATAC TCCTGAGAAGCTTCGTACTCTTCTTGCTGAGA AGCTTTCTTCTCGTCCTGAGGCTGTTCATGAG TATGTTACTCCTCTTTTTGTTTCTCGTGCTCCT AATCGTAAGATGTCTGGTCAGGGTCATATGGA GACTGTTAAGTCTGCTAAGCGTCTTGATGAG GGTGTTTCTGTTCTTCGTGTTCCTCTTACTCA GCTTAAGCTTAAGGATCTTGAGAAGATGGTTA ATCGTGAGCGTGAGCCTAAGCTTTATGAGGC TCTTAAGGCTCGTCTTGAGGCTCATAAGGATG ATCCTGCTAAGGCTTTTGCTGAGCCTTTTTAT AAGTATGATAAGGCTGGTAATCGTACTCAGCA GGTTAAGGCTGTTCGTGTTGAGCAGGTTCAG AAGACTGGTGTTTGGGTTCGTAATCATAATGG TATTGCTGATAATGCTACTATGGTTCGTGTTGA TGTTTTTGAGAAGGGTGATAAGTATTATCTTG TTCCTATTTATTCTTGGCAGGTTGCTAAGGGT ATTCTTCCTGATCGTGCTGTTGTTGCTTATGCT GATGAGGAGGATTGGACTGTTATTGATGAGTC TTTTCGTTTTAAGTTTGTTCTTTATTCTAATGA TCTTATTAAGGTTCAGCTTAAGAAGGATTCTT TTCTTGGTTATTTTTCTGGTCTTGATCGTGCTA CTGGTGCTATTTCTCTTCGTGAGCATGATCTT GAGAAGTCTAAGGGTAAGGATGGTATGCATC GTATTGGTGTTAAGACTGCTCTTTCTTTTCAG

[1379]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGTATCAGATTGATGAGATGGGTAAGGAGA TTCGTCCTTGTCGTCTTAAGAAGCGTCCTCCT GTTCGTUGA
224	Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性开放阅读框	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACT ACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTC CGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAG GAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGG GCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGC CCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCG GCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACC CGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCC CGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTG CAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTG ATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGC TGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGA CCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCA CCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAG CGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAG GAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCC GACAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGAC TTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACA AGTTCGAGAAGGAGTGCGGCCACATCCGGA ACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTC CCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGAACCT GCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAA CCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGG CATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCC GCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGC TGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCC CAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGA GCGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAAC CTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGC CCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGAT GGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACC TACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGTCCCTGG AGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTA CGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCT GATGGAGATGAAGGCCTACCACACCATCTCC CGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGAC AAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCCCCGAGC TGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCT GTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCG GCTGAAGGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTG GAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACA AGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCG GCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAG CGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACG GCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGG

[1380]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGA CGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCC CTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCG TGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGAT CCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAA GTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAA GCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGA GAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTC CCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGG ACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCA GCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAG ATCAACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGC TACGTGGAGATCGACGCCGCCCTGCCCTTCT CCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAA GGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAA CAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTC AACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAG GAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGT TCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCT GCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGA GCGGAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAA CCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGG ATGCGGCTGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGG GTGTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACC TGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGT GCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCT GGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTG GCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGC GGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAA GACCATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCT GCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGG GAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGG TGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTT CGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCG GACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGG CCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCC TGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAT GTCCGGCCAGGGCCACATGGAGACCGTGAA GTCCGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGTC CGTGCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAG CTGAAGGACCTGGAGAAGATGGTGAACCGG GAGCGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTG AAGGCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGAC CCCGCCAAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACA AGTACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGC AGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGC AGAAGACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACA ACGGCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCG

[1381]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGTGGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTA CTACCTGGTGCCCATCTACTCCTGGCAGGTGG CCAAGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGT GGCCTACGCCGACGAGGAGGACTGGACCGT GATCGACGAGTCCTTCCGGTTCAAGTTCGTG CTGTACTCCAACGACCTGATCAAGGTGCAGC TGAAGAAGGACTCCTTCCTGGGCTACTTCTC CGGCCTGGACCGGGCCACCGGCGCCATCTCC CTGCGGGAGCACGACCTGGAGAAGTCCAAG GGCAAGGACGGCATGCACCGGATCGGCGTG AAGACCGCCCTGTCCTTCCAGAAGTACCAGA TCGACGAGATGGGCAAGGAGATCCGGCCCTG CCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGUG A
225	Nme3Cas9 HNH 切口酶的示例性开放阅读框	ATGGCAGCATTCAAACCAAACCCAATCAACT ACATCCTAGGACTAGACATCGGAATCGCATCA GTAGGATGAGCAATGGTAGAAATCGACGAAG AAGAAAACCCAATCCGACTAATCGACCTAGG AGTACGAGTATTCGAACGAGCAGAAGTACCA AAAACAGGAGACTCACTAGCAATGGCACGA CGACTAGCACGATCAGTACGACGACTAACAC GACGACGAGCACACCGACTACTACGAGCAC GACGACTACTAAAACGAGAAGGAGTACTACA AGCAGCAGACTTCGACGAAAACGGACTAATC AAATCACTACCAAACACACCATGACAACTAC GAGCAGCAGCACTAGACCGAAAACTAACAC CACTAGAATGATCAGCAGTACTACTACACCTA ATCAAACACCGAGGATACCTATCACAACGAA AAAACGAAGGAGAAACAGCAGACAAAGAA CTAGGAGCACTACTAAAAGGAGTAGCAGACA ACGCACACGCACTACAAACAGGAGACTTCCG AACACCAGCAGAACTAGCACTAAACAAATTC GAAAAAGAATGCGGACACATCCGAAACCAA CGAGGAGACTACTCACACACATTCTCACGAA AAGACCTACAAGCAGAACTAAACCTACTATT CGAAAAACAAAAAGAATTCGGAAACCCACA CGTATCAGGAGGACTAAAAGAAGGAATCGAA ACACTACTAATGACACAACGACCAGCACTAT CAGGAGACGCAGTACAAAAAATGCTAGGAC ACTGCACATTCGAACCAGCAGAACCAAAAG CAGCAAAAAACACATACACAGCAGAACGATT CATCTGACTAACAAAACTAAACAACCTACGA ATCCTAGAACAAGGATCAGAACGACCACTAA CAGACACAGAACGAGCAACACTAATGGACG AACCATACCGAAAATCAAAACTAACATACGC ACAAGCACGAAAACTACTATCACTAGAAGAC ACAGCATTCTTCAAAGGACTACGATACGGAA AAGACAACGCAGAAGCATCAACACTAATGGA

[1382]

SEQ ID NO	说明	序列
		AATGAAAGCATACCACACAATCTCACGAGCA CTAGAAAAAGAAGGACTAAAAGACAAAAAA TCACCACTAAACCTATCACCAGAACTACAAG ACGAAATCGGAACAGCATTCTCACTATTCAA AACAGACGAAGACATCACAGGACGACTAAA AGACCGAATCCAACCAGAAATCCTAGAAGCA CTACTAAAACACATCTCATTCGACAAATTCGT ACAAATCTCACTAAAAGCACTACGACGAATC GTACCACTAATGGAACAAGGAAAACGATACG ACGAAGCATGCGCAGAAATCTACGGAGACCA CTACGGAAAAAAAAACACAGAAGAAAAAAT CTACCTACCACCAATCCCAGCAGACGAAATC CGAAACCCAGTAGTACTACGAGCACTATCAC AAGCACGAAAAGTAATCAACGGAGTAGTACG ACGATACGGATCACCAGCACGAATCCACATC GAAACAGCACGAGAAGTAGGAAAATCATTCA AAGACCGAAAAGAAATCGAAAAACGACAAG AAGAAAACCGAAAAGACCGAGAAAAAGCA GCAGCAAAATTCCGAGAATACTTCCCAAACT TCGTAGGAGAACCAAAATCAAAAGACATCCT AAAACTACGACTATACGAACAACAACACGGA AAATGCCTATACTCAGGAAAAGAAATCAACC TAGGACGACTAAACGAAAAAGGATACGTAGA AATCGACGCAGCACTACCATTCTCACGAACA TGAGACGACTCATTCAACAACAAAGTACTAG TACTAGGATCAGAAAACCAAAACAAAGGAA ACCAAACACCATACGAATACTTCAACGGAAA AGACAACTCACGAGAATGACAAGAATTCAA AGCACGAGTAGAAACATCACGATTCCCACGA TCAAAAAAACAACGAATCCTACTACAAAAAT TCGACGAAGACGGATTCAAAGAACGAAACC TAAACGACACACGATACGTAAACCGATTCCT ATGCCAATTCGTAGCAGACCGAATGCGACTA ACAGGAAAAGGAAAAAAACGAGTATTCGCA TCAAACGGACAAATCACAAACCTACTACGAG GATTCTGAGGACTACGAAAAGTACGAGCAGA AAACGACCGACACCACGCACTAGACGCAGT AGTAGTAGCATGCTCAACAGTAGCAATGCAA CAAAAAATCACACGATTCGTACGATACAAAG AAATGAACGCATTCGACGGAAAAACAATCGA CAAAGAAACAGGAGAAGTACTACACCAAAA AACACACTTCCCACAACCATGAGAATTCTTC GCACAAGAAGTAATGATCCGAGTATTCGGAA AACCAGACGGAAAACCAGAATTCGAAGAAG CAGACACACCAGAAAAACTACGAACACTACT AGCAGAAAAACTATCATCACGACCAGAAGCA GTACACGAATACGTAACACCACTATTCGTATC ACGAGCACCAAACCGAAAAATGTCAGGACA

[1383]

SEQ ID NO	说明	序列
		AGGACACATGGAAACAGTAAAATCAGCAAA ACGACTAGACGAAGGAGTATCAGTACTACGA GTACCACTAACACAACTAAAACTAAAAGACC TAGAAAAAATGGTAAACCGAGAACGAGAAC CAAAACTATACGAAGCACTAAAAGCACGACT AGAAGCACACAAAGACGACCCAGCAAAAGC ATTCGCAGAACCATTCTACAAATACGACAAA GCAGGAAACCGAACACAACAAGTAAAAGCA GTACGAGTAGAACAAGTACAAAAAACAGGA GTATGAGTACGAAACCACAACGGAATCGCAG ACAACGCAACAATGGTACGAGTAGACGTATT CGAAAAAGGAGACAAATACTACCTAGTACCA ATCTACTCATGACAAGTAGCAAAAGGAATCC TACCAGACCGAGCAGTAGTAGCATACGCAGA CGAAGAAGACTGAACAGTAATCGACGAATCA TTCCGATTCAAATTCGTACTATACTCAAACGA CCTAATCAAAGTACAACTAAAAAAAGACTCA TTCCTAGGATACTTCTCAGGACTAGACCGAGC AACAGGAGCAATCTCACTACGAGAACACGAC CTAGAAAAATCAAAAGGAAAAGACGGAATG CACCGAATCGGAGTAAAAACAGCACTATCAT TCCAAAAATACCAAATCGACGAAATGGGAAA AGAAATCCGACCATGCCGACTAAAAAAACGA CCACCAGTACGAUAA
226	示例性 SpyCas9 sgRNA-1	GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAA GUGGCACCGAGUCGGUGC
227	向导序列 3'端后的示例性核苷酸序列	GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAA GUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
228	示例性经修饰的 SpyCas9 基序	mN*mN*mN*NNNNNNNNNNNNNNNNGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
229	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmA mAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG mUmCmGmGmUmGmC
230	示例性经修饰的 SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmA mAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG mUmCmGmGmUmGmCmU
231	示例性经修饰的	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmA

[1384]

SEQ ID NO	说明	序列
	SpyCas9 保守部分基序	mAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGGCACCGAGUCGG*mU*mG*mC
232	示例性经修饰的SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAAAAUGGCACCGAGUCGG*mU*mG*mC
233	示例性经修饰的SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmAmAmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmG*mU*mG*mC
234	示例性经修饰的SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGG*mU*mG*mC
235	示例性经修饰的SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmCmGmAmAmAmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmG*mU*mG*mC
236	示例性经修饰的SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGGU*mG*mC*mU
237	示例性经修饰的SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGGmUmGmC*mU
238	示例性经修饰的SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUfUAGmAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCmAmAGUfUmAfAmAfAmUAmAmGmGmCmUmAGUmCmCGUfUAmUmCAmCmGmAmAmAmGmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmU*mG*mC*mU
239	示例性经修饰的SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGGmU*mG*mC*mU
240	示例性经修饰的SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmGmUmGmC
241	示例性经修饰的SpyCas9 保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmGmUmGmCmU

[1385]

SEQ ID NO	说明	序列
242	示例性经修饰的SpyCas9保守部分基序	(mN*3N17GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGGCACCGAGUCGG*mU*mG*mC
243	示例性NmeCas9 sgRNA-1	GUUGUAGCUCCCUUUCUCAUUUCGGAAACGAAAUGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCCUUAAAGCUUCUGCUUUAAGGGGCAUCGUUUA
244	示例性未经修饰的保守部分核苷酸序列	GUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU
245	示例性未经修饰的保守部分核苷酸序列	GUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU
246	示例性经修饰的保守部分基序	GUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
247	示例性经修饰的保守部分基序	GUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
248	示例性经修饰的保守部分基序	mN*mNNNNNNNNmNNNmNNNNNNNNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
249	示例性经修饰的保守部分基序	(N)20-25GUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
250	示例性经修饰的保守部分基序	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
251	G000562	CCAAUAUCAGGAGACUAGGA
252	G013515	CCAUCGUAAGCAAACCUUAG
253	G013519	GCAAGGAGAGAGAUGGCUCC
254	G013520	GAGAGAUGGCUCCAGGAAAU

[1386]

SEQ ID NO	说明	序列
255	G013523	GGUGACACACCCCCAUUUCC
256	G013533	AGACCCAAUAUCAGGAGACU
257	G013543	UGUCCCUAGUGGCCCCACUG
258	G013559	CCGGCCCUGGGAAUAUAAGG
259	G013562	AAUAUAAGGUGGUCCCAGCU
260	G013563	AUAUAAGGUGGUCCCAGCUC
261	G013564	UAUAAGGUGGUCCCAGCUCG
262	G013565	GGAUCCUGUGUCCCCGAGCU
263	G013582	CCUGUCAUGGCAUCUUCCAG
264	G013584	CCCUGGAAGAUGCCAUGACA
265	G000562 (示例性全序列)	CCAAUAUCAGGAGACUAGGAGUUUUAGAG CUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGA GUCGGUGCUUUU
266	G013515 (示例性全序列)	CCAUCGUAAGCAAACCUUAGGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU
267	G013519 (示例性全序列)	GCAAGGAGAGAGAUGGCUCCGUUUUAGAG CUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGA GUCGGUGCUUUU
268	G013520 (示例性全序列)	GAGAGAUGGCUCCAGGAAAUGUUUUAGAG CUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGA GUCGGUGCUUUU
269	G013523 (示例性全序列)	GGUGACACACCCCCAUUUCCGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU
270	G013533 (示例性全序列)	AGACCCAAUAUCAGGAGACUGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU
271	G013543 (示例性全序列)	UGUCCCUAGUGGCCCCACUGGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU
272	G013559 (示例性全序列)	CCGGCCCUGGGAAUAUAAGGGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU
273	G013562 (示例性全序列)	AAUAUAAGGUGGUCCCAGCUGUUUUAGAG CUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGA GUCGGUGCUUUU

[1387]

SEQ ID NO	说明	序列
274	G013563 (示例性全序列)	AUAUAAGGUGGUCCCAGCUCGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU
275	G013564 (示例性全序列)	UAUAAGGUGGUCCCAGCUCGGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU
276	G013565 (示例性全序列)	GGAUCCUGUGUCCCCGAGCUGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU
277	G013582 (示例性全序列)	CCUGUCAUGGCAUCUUCCAGGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU
278	G013584 (示例性全序列)	CCCUGGAAGAUGCCAUGACAGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU
279	G000562 (示例性经修饰序列)	mC*mC*mA*AUAUCAGGAGACUAGGAGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
280	G013515 (示例性经修饰序列)	mC*mC*mA*UCGUAAGCAAACCUUAGGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
281	G013519 (示例性经修饰序列)	mG*mC*mA*AGGAGAGAGAUGGCUCCGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
282	G013520 (示例性经修饰序列)	mG*mA*mG*AGAUGGCUCCAGGAAAUGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
283	G013523 (示例性经修饰序列)	mG*mG*mU*GACACACCCCCAUUUCCGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm

[1388]

SEQ ID NO	说明	序列
		AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
284	G013533 (示例性经修饰序列)	mA*mG*mA*CCCAAUAUCAGGAGACUGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
285	G013543 (示例性经修饰序列)	mU*mG*mU*CCCUAGUGGCCCCACUGGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
286	G013559 (示例性经修饰序列)	mC*mC*mG*GCCCUGGGAAUAUAAGGGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
287	G013562 (示例性经修饰序列)	mA*mA*mU*AUAAGGUGGUCCCAGCUGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
288	G013563 (示例性经修饰序列)	mA*mU*mA*UAAGGUGGUCCCAGCUCGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
289	G013564 (示例性经修饰序列)	mU*mA*mU*AAGGUGGUCCCAGCUCGGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
290	G013565 (示例性经修饰序列)	mG*mG*mA*UCCUGUGUCCCCGAGCUGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
291	G013582 (示例性经修饰序列)	mC*mC*mU*GUCAUGGCAUCUUCCAGGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC

[1389]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
292	G013584 (示例性经修饰序列)	mC*mC*mC*UGGAAGAUGCCAUGACAGUUU UAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGm CmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
293	Cas9 的开放阅读框	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGAC AUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUC AUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAG AAGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGA CACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCA CUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA GCAACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAG AAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCU GCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAA UGGCAAAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACA GACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAA GACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUC GGAAACAUCGUCGACGAAGUCGCAUACCAC GAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGA AAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCA GACCUGAGACUGAUCUACCUGGCACUGGCA CACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUG AUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGC GACGUCGACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUC CAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAAC CCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAG GCAAUCCUGAGCGCAAGACUGAGCAAGAGC AGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUG CCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGG AAACCUGAUCGCACUGAGCCUGGGACUGAC ACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGC AGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGA CACAUACGACGACGACCUGGACAACCUGCU GGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCU GUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGC AAUCCUGCUGAGCGACAUCCUGAGAGUCAA CACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGC AAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCA CCAGGACCUGACACUGCUGAAGGCACUGGU CAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGA AAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUA CGCAGGAUACAUCGACGGAGGAGCAAGCCA GGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAU

[1390]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAAC
		UGCUGGUCAAGCUGAACAGAGAAGACCUGC
		UGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGA
		AGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAA
		CUGCACGCAAUCCUGAGAAGACAGGAAGAC
		UUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAA
		AAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUC
		CCGUACUACGUCGGACCGCUGGCAAGAGGA
		AACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAA
		GAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUU
		CGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAAGCGC
		ACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUU
		CGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCU
		GCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUACUU
		CACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAA
		GUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGC
		AUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAA
		UCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAA
		AGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACU
		ACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCG
		UCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCA
		ACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGC
		UGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGG
		ACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAG
		ACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAG
		ACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAG
		ACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUC
		AUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACAC
		AGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGA
		UCAACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAA
		AGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACG
		GAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGA
		UCCACGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAG
		ACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGG
		GAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACC
		UGGCAGGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAA
		UCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAAC
		UGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGG
		AAAACAUCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAA
		AACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAAC
		AGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGA
		AGGAAUCAAGGAACUGGGAAGCCAGAUCCU
		GAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCU
		GCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCU
		GCAGAACGGAAGAGACAUGUACGUCGACCA
		GGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUA
		CGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUU
		CCUGAAGGACGACAGCAUCGACAACAAGGU

[1391]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAA GAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGU CAAGAAGAUGAAGAACUACUGGAGACAGC UGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAA AGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAG GAGGACUGAGCGAACUGGACAAGGCAGGA UUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGA CAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUG GACAGCAGAAUGAACACAAAGUACGACGAA AACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUC AUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGAC UUCAGAAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUC AGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACAC GACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACA GCACUGAUCAAGAAGUACCCGAAGCUGGAA AGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUC UACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGC GAACAGGAAAUCGGAAAGGCAACAGCAAA GUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUU CUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGG AGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAUCGAAAC AAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGG ACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAA AGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAACAUCG UCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGA UUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGA AACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGAAG GACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUC GACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUG GUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAG CAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCU GGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCU UCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAG CAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGAC CUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUG UUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAU GCUGGCAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGG AAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGU CAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGA AAAGCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGA ACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAA GCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAU CAGCGAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGC AGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGC AUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAG AGAACAGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUU CACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGC AUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAG

[1392]

SEQ ID NO	说明	序列
		AAAGAGAUACACAAGCACAAAGGAAGUCCU GGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCAC AGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAG CCAGCUGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCC GAAGAAGAAGAGAAAGGUCUAG
294	Cas9 的氨基酸序列	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKF KVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLK RTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFF HRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEK YPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKF RGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFE ENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLP GEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAK LQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAK NLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEH HQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKL NREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQ EDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNS RFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIE RMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELT KVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNR KVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNAS LGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLT LFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRY TGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFA NRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLH EHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGR HKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIE EGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQN GRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDD SIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKN YWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDK AGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDEN DKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREIN NYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKLESEFVYG DYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIM NFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDK GRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKE SILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVA YSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSS FEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELE NGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYL ASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEII EQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIR EQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYT STKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGGDGG GSPKKKRKV

[1393]

SEQ ID NO	说明	序列
295	Cas9 的开放阅读框	AUGGACAAGAAGUACUCCAUCGGCCUGGAC AUCGGCACCAACUCCGUGGGCUGGGCCGUG AUCACCGACGAGUACAAGGUGCCCUCCAAG AAGUUCAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGG CACUCCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCC CUGCUGUUCGACUCCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCUGAAGCGGACCGCCCGGCGG CGGUACACCCGGCGGAAGAACCGGAUCUGC UACCUGCAGGAGAUCUUCUCCAACGAGAUG GCCAAGGUGGACGACUCCUUCUUCCACCGG CUGGAGGAGUCCUUCCUGGUGGAGGAGGAC AAGAAGCACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGC AACAUCGUGGACGAGGUGGCCUACCACGAG AAGUACCCCACCAUCUACCACCUGCGGAAG AAGCUGGUGGACUCCACCGACAAGGCCGAC CUGCGGCUGAUCUACCUGGCCCUGGCCCAC AUGAUCAAGUUCCGGGGCCACUUCCUGAUC GAGGGCGACCUGAACCCCGACAACUCCGAC GUGGACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUGCAG ACCUACAACCAGCUGUUCGAGGAGAACCCC AUCAACGCCUCCGGCGUGGACGCCAAGGCC AUCCUGUCCGCCCGGCUGUCCAAGUCCCGG CGGCUGGAGAACCUGAUCGCCCAGCUGCCC GGCGAGAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAAC CUGAUCGCCCUGUCCCUGGGCCUGACCCCC AACUUCAAGUCCAACUUCGACCUGGCCGAG GACGCCAAGCUGCAGCUGUCCAAGGACACC UACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCC CAGAUCGGCGACCAGUACGCCGACCUGUUC CUGGCCGCCAAGAACCUGUCCGACGCCAUC CUGCUGUCCGACAUCCUGCGGGUGAACACC GAGAUCACCAAGGCCCCCCUGUCCGCCUCC AUGAUCAAGCGGUACGACGAGCACCACCAG GACCUGACCCUGCUGAAGGCCCUGGUGCGG CAGCAGCUGCCCGAGAAGUACAAGGAGAUC UUCUUCGACCAGUCCAAGAACGGCUACGCC GGCUACAUCGACGGCGGCGCCUCCCAGGAG GAGUUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUG GAGAAGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUG GUGAAGCUGAACCGGGAGGACCUGCUGCGG AAGCAGCGGACCUUCGACAACGGCUCCAUC CCCCACCAGAUCCACCUGGGCGAGCUGCAC GCCAUCCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUAC CCCUUCCUGAAGGACAACCGGGAGAAGAUC GAGAAGAUCCUGACCUUCCGGAUCCCCUAC UACGUGGGCCCCCUGGCCCGGGGCAACUCC CGGUUCGCCUGGAUGACCCGGAAGUCCGAG GAGACCAUCACCCCCUGGAACUUCGAGGAG

[1394]

SEQ ID NO	说明	序列
		GUGGUGGACAAGGGCGCCUCCGCCCAGUCC
		UUCAUCGAGCGGAUGACCAACUUCGACAAG
		AACCUGCCCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAG
		CACUCCCUGCUGUACGAGUACUUCACCGUG
		UACAACGAGCUGACCAAGGUGAAGUACGUG
		ACCGAGGGCAUGCGGAAGCCCGCCUUCCUG
		UCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGAC
		CUGCUGUUCAAGACCAACCGGAAGGUGACC
		GUGAAGCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAA
		GAAGAUCGAGUGCUUCGACUCCGUGGAGAU
		CUCCGGCGUGGAGGACCGGUUCAACGCCUC
		CCUGGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAU
		CAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGA
		GGAGAACGAGGACAUCCUGGAGGACAUCGU
		GCUGACCCUGACCCUGUUCGAGGACCGGGA
		GAUGAUCGAGGAGCGGCUGAAGACCUACGC
		CCACCUGUUCGACGACAAGGUGAUGAAGCA
		GCUGAAGCGGCGGCGGUACACCGGCUGGGG
		CCGGCUGUCCCGGAAGCUGAUCAACGGCAU
		CCGGGACAAGCAGUCCGGCAAGACCAUCCU
		GGACUUCCUGAAGUCCGACGGCUUCGCCAA
		CCGGAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGA
		CUCCCUGACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAA
		GGCCCAGGUGUCCGGCCAGGGCGACUCCCU
		GCACGAGCACAUCGCCAACCUGGCCGGCUC
		CCCCGCCAUCAAGAAGGGCAUCCUGCAGAC
		CGUGAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGG
		UGAUGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACAUCG
		UGAUCGAGAUGGCCCGGGAGAACCAGACCA
		CCCAGAAGGGCCAGAAGAACUCCCGGGAGC
		GGAUGAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUCAAG
		GAGCUGGGCUCCCAGAUCCUGAAGGAGCAC
		CCCGUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAG
		AAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGC
		CGGGACAUGUACGUGGACCAGGAGCUGGAC
		AUCAACCGGCUGUCCGACUACGACGUGGAC
		CACAUCGUGCCCCAGUCCUUCCUGAAGGAC
		GACUCCAUCGACAACAAGGUGCUGACCCGG
		UCCGACAAGAACCGGGGCAAGUCCGACAAC
		GUGCCCUCCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAU
		GAAGAACUACUGGCGGCAGCUGCUGAACGC
		CAAGCUGAUCACCCAGCGGAAGUUCGACAA
		CCUGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGUC
		CGAGCUGGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGCG
		GCAGCUGGUGGAGACCCGGCAGAUCACCAA
		GCACGUGGCCCAGAUCCUGGACUCCCGGAU
		GAACACCAAGUACGACGAGAACGACAAGCU
		GAUCCGGGAGGUGAAGGUGAUCACCCUGAA

[1395]

SEQ ID NO	说明	序列
		GUCCAAGCUGGUGUCCGACUUCCGGAAGGA CUUCCAGUUCUACAAGGUGCGGGAGAUCAA CAACUACCACCACGCCCACGACGCCUACCU GAACGCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUCAA GAAGUACCCCAAGCUGGAGUCCGAGUUCGU GUACGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCG GAAGAUGAUCGCCAAGUCCGAGCAGGAGAU CGGCAAGGCCACCGCCAAGUACUUCUUCUA CUCCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGA GAUCACCCUGGCCAACGGCGAGAUCCGGAA GCGGCCCCUGAUCGAGACCAACGGCGAGAC CGGCGAGAUCGUGUGGGACAAGGGCCGGGA CUUCGCCACCGUGCGGAAGGUGCUGUCCAU GCCCCAGGUGAACAUCGUGAAGAAGACCGA GGUGCAGACCGGCGGCUUCUCCAAGGAGUC CAUCCUGCCCAAGCGGAACUCCGACAAGCU GAUCGCCCGGAAGAAGGACUGGGACCCCAA GAAGUACGGCGGCUUCGACUCCCCCACCGU GGCCUACUCCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGU GGAGAAGGGCAAGUCCAAGAAGCUGAAGU CCGUGAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCA UGGAGCGGUCCUCCUUCGAGAAGAACCCCA UCGACUUCCUGGAGGCCAAGGGCUACAAGG AGGUGAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGC CCAAGUACUCCCUGUUCGAGCUGGAGAACG GCCGGAAGCGGAUGCUGGCCUCCGCCGGCG AGCUGCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCUGC CCUCCAAGUACGUGAACUUCCUGUACCUGG CCUCCCACUACGAGAAGCUGAAGGGCUCCC CCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCG UGGAGCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGA UCAUCGAGCAGAUCUCCGAGUUCUCCAAGC GGGUGAUCCUGGCCGACGCCAACCUGGACA AGGUGCUGUCCGCCUACAACAAGCACCGGG ACAAGCCCAUCCGGGAGCAGGCCGAGAACA UCAUCCACCUGUUCACCCUGACCAACCUGG GCGCCCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACA CCACCAUCGACCGGAAGCGGUACACCUCCA CCAAGGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCC ACCAGUCCAUCACCGGCCUGUACGAGACCC GGAUCGACCUGUCCCAGCUGGGCGGCGACG GCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGG UGUGA
296	Cas9-NLS 的氨基酸序列	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKF KVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLK RTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFF HRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEK YPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKF

[1396]

SEQ ID NO	说明	序列
		RGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFE ENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLP GEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAK LQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAK NLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEH HQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKL NREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQ EDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNS RFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIE RMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELT KVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNR KVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNAS LGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLT LFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRY TGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFA NRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLH EHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGR HKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIE EGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQN GRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDD SIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKN YWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDK AGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDEN DKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREIN NYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKLESEFVYG DYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIM NFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDK GRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKE SILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVA YSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSS FEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELE NGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYL ASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEII EQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIR EQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYT STKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGGDGG GSPKKKRKV
297	在 TRAC G013006 切割位点侧翼具有同源臂的 TCR 插入构建体-包括 ITR	TTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCT CACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCG ACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTG AGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC AACTCCATCACTAGGGGTTCCTagatcttgccaacata ccataaacctcccattctgctaatgcccagcctaagttggggagaccactc cagattccaagatgtacagtttgctttgctgggccttttcccatgcctgcctt tactctgccagagttatattgctggggttttgaagaagatcctattaaataaa agaataagcagtattattaagtagccctgcatttcaggtttccttgagtggca ggccaggcctggccgtgaacgttcactgaaatcatggcctcttggccaag

[1397]

SEQ ID NO	说明	序列
		attgatagcttgtgcctgtccctgagtcccagtccatcacgagcagctggtt tctaagatgctatttcccgtataaagcatgagaccgtgacttgccagcccc acagagccccgcccttgtccatcactggcatctggactccagcctgggtt ggggcaaagagggaaatgagatcatgtcctaaccctgatcctcttgtccc acagATATCCAGAACCCTGACCCTGCGGCTCCG GTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCC CACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGT CGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGG CGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGT ACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGG AGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTG AACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA GAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCG CGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTT GCGTGCCTTGAATTACTTCCACGCCCCTGGCT GCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGG TTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTG CGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGA GTTGAGGCCTGGCTTGGGCGCTGGGGCCGCC GCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTG TCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTT AAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTT TTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCC AAGATgTGCACACTGGTATTTCGGTTTTTGGG GCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCC CAGCGCACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGC GAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGT AGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCC TGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCCGCCCT GGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAG TTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGG CCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGAC GCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTC ACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCC TCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGT ACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTT CTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTT GGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCC CCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGG CCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGA ATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCAT TCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTT TTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAtGCGGCCG CCACCATGGCCCTGCCCGTGACCGCCCTGCT GCTGCCCCTGGCCCTGCTGCTGCACGCCGCC CGGCCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGC GGCGGCCTGGTGCAGCCCGGCGGCAGCCTG CGGCTGAGCTGCGTGGCCAGCGGCTTCACCT

[1398]

SEQ ID NO	说明	序列
		TCAGCAGCAACGCCATGAGCTGGGTGCGGCA GGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAG CGCCATCAGCGGCAGCGGCGACTACACCCAC TACAGCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCA TCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGT ACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAAGGAGGT GCCCGGCGGCCCCCTGGTGGACTTCGACAGC CGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGC AGCGGCGGCGGCGGCAGCCAGGTGCAGCTG GTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCC GGCGGCAGCCTGCGGCTGAGCTGCGTGGCC AGCGGCTTCACCTTCAGCAGCAACGCCATGA GCTGGGTGCGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCC TGGAGTGGGTGAGCGCCATCAGCGGCAGCG GCGACTACACCCACTACAGCGACAGCGTGAA GGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCC TGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTG CGCCAAGGAGGTGCCCGGCGGCCCCCTGGT GGACTTCGACAGCCGGGGCCAGGGCACCCT GGTGACCGTGAGCAGCACCACCACCCCCGCC CCCCGGCCCCCCACCCCCGCCCCCACCATCG CCAGCCAGCCCCTGAGCCTGCGGCCCGAGGC CTGCCGGCCCGCCGCCGGCGGCGCCGTGCAC ACCCGGGGCCTGGACTTCGCCTGCGACTTCT GGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGCGTGCTGGC CTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTC ATCATCTTCTGGGTGCGGAGCAAGCGGAGCC GGCTGCTGCACAGCGACTACATGAACATGAC CCCCCGGCGGCCCGGCCCCACCCGGAAGCA CTACCAGCCCTACGCCCCCCCCCGGGACTTC GCCGCCTACCGGAGCCGGGTGAAGTTCAGCC GGAGCGCCGACGCCCCCGCCTACCAGCAGG GCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCT GGGCCGGCGGGAGGAGTACGACGTGCTGGA CAAGCGGCGGGGCCGGGACCCCGAGATGGG CGGCAAGCCCCGGCGGAAGAACCCCCAGGA GGGCCTGTACAACGAGCTGCAGAAGGACAA GATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATG AAGGGCGAGCGGCGGCGGGGCAAGGGCCAC GACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCA CCAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCA GGCCCTGCCCCCCCCGGTAATGACCTCGACTG TGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGC CCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAG GTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAAT GAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGT

[1399]

SEQ ID NO	说明	序列
		GTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCA GGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAA TAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCT ATGGCTTCTGAGGCGGAAAGAACCAGCTGG GGCTCTAGGGGGTATCCCCACTAGTCGTGTAC CAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGT CTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTCAA ACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATG TGTATATCACAGACAAAACTGTGCTAGACATG AGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTG TGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATG TGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCA GAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGgtaagggca gctttggtgccttcgcaggctgtttccttgcttcaggaatggccaggttctg cccagagctctggtcaatgatgtctaaaactcctctgattggtggtctcggc cttatccattgccaccaaaaccctcttttactaagaaacagtgagccttgtt ctggcagtccagagaatgacacgggaaaaaagcagatgaagagaaggt ggcaggagagggcacgtggcccagcctcagtctctAGATCTAG GAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCT CTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGC CCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGGGCGACCTTT GGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCG CGCAGAGAGGGAGTGGCCAA
298	双向 SERPINA 插入构建体	taggtcagtgaagagaagaacaaaaagcagcatattacagttagttgtctt catcaatctttaaatatgttgtgtggtttttctctccctgtttccacagttGAG GACCCCCAGGGCGACGCCGCCCAGAAGACC GACACCAGCCACCACGACCAGGACCACCCC ACCTTCAACAAGATCACCCCCAACCTGGCCG AGTTCGCCTTCAGCCTGTACAGGCAGCTGGC CCACCAGAGCAACAGCACCAACATCTTCTTC AGCCCCGTGAGCATCGCCACCGCCTTCGCCA TGCTGAGCCTGGGCACCAAGGCCGACACCC ACGACGAGATCCTGGAGGGCCTGAACTTCAA CCTGACCGAGATCCCCGAGGCCCAGATCCAC GAGGGCTTCCAGGAGCTGCTGAGGACCCTG AACCAGCCCGACAGCCAGCTGCAGCTGACC ACCGGCAACGGCCTGTTCCTGAGCGAGGGCC TGAAGCTGGTGGACAAGTTCCTGGAGGACGT GAAGAAGCTGTACCACAGCGAGGCCTTCACC GTGAACTTCGGCGACACCGAGGAGGCCAAG AAGCAGATCAACGACTACGTGGAGAAGGGC ACCCAGGGCAAGATCGTGGACCTGGTGAAG GAGCTGGACAGGGACACCGTGTTCGCCCTGG TGAACTACATCTTCTTCAAGGGCAAGTGGGA GAGGCCCTTCGAGGTGAAGGACACCGAGGA GGAGGACTTCCACGTGGACCAGGTGACCAC CGTGAAGGTGCCCATGATGAAGAGGCTGGGC ATGTTCAACATCCAGCACTGCAAGAAGCTGA

[1400]

SEQ ID NO	说明	序列
		GCAGCTGGGTGCTGCTGATGAAGTACCTGGG CAACGCCACCGCCATCTTCTTCCTGCCCGAC GAGGGCAAGCTGCAGCACCTGGAGAACGAG CTGACCCACGACATCATCACCAAGTTCCTGG AGAACGAGGACAGGAGGAGCGCCAGCCTGC ACCTGCCCAAGCTGAGCATCACCGGCACCTA CGACCTGAAGAGCGTGCTGGGCCAGCTGGG CATCACCAAGGTGTTCAGCAACGGCGCCGAC CTGAGCGGCGTGACCGAGGAGGCCCCCCTG AAGCTGAGCAAGGCCGTGCACAAGGCCGTG CTGACCATCGACGAGAAGGGCACCGAGGCC GCCGGCGCCATGTTCCTGGAGGCCATCCCCA TGAGCATCCCCCCCGAGGTGAAGTTCAACAA GCCCTTCGTGTTCCTGATGATCGAGCAGAAC ACCAAGAGCCCCCTGTTCATGGGCAAGGTGG TGAACCCCACCCAGAAGTAACAGACATGATA AGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAA CTAGAATGCAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGT GAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACC ATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACA ACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTCAG GGGGAGGTGTGGGAGGTTTTTTggggataccccctagagccccagctggttctttccgcctcagaagCCATAGAGCCCA CCGCATCCCCAGCATGCCTGCTATTGTCTTCC CAATCCTCCCCCTTGCTGTCCTGCCCCACCCC ACCCCCCAGAATAGAATGACACCTACTCAGA CAATGCGATGCAATTTCCTCATTTTATTAGGA AAGGACAGTGGGAGTGGCACCTTCCAGGGT CAAGGAAGGCACGGGGGAGGGGCAAACAAC AGATGGCTGGCAACTAGAAGGCACAGTCGagg ttaTTTTTGGGTGGGATTCACCACTTTTCCCAT GAAGAGGGGAGACTTGGTATTTTGTTCAATC ATTAAGAAGACAAAGGGTTTGTTGAACTTGA CCTCGGGGGGGGATAGACATGGGTATGGCCTC TAAAAACATGGCCCCAGCAGCTTCAGTCCCT TTCTCGTCGATGGTCAGCACAGCCTTATGCAC GGCCTTGGAGAGCTTCAGGGGTGCCTCCTCT GTGACCCCGGAGAGGTCAGCCCCATTGCTGA AGACCTTAGTGATGCCCAGTTGACCCAGGAC GCTCTTCAGATCATAGGTTCCAGTAATGGACA GTTTGGGTAAATGTAAGCTGGCAGACCTTCT GTCTTCATTTTCCAGGAACTTGGTGATGATAT CGTGGGTGAGTTCATTTTCCAGGTGCTGTAGT TTCCCCTCATCAGGCAGGAAGAAGATGGCGG TGGCATTGCCCAGGTATTTCATCAGCAGCACC CAGCTGGACAGCTTCTTACAGTGCTGGATGT TAAACATGCCTAAACGCTTCATCATAGGCACC TTCACGGTGGTCACCTGGTCCACGTGGAAGT

[1401]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCTCTTCCTCGGTGTCCTTGACTTCAAAGGGT CTCTCCCATTTGCCTTTAAAGAAGATGTAATT CACCAGAGCAAAAACTGTGTCTCTGTCAAGC TCCTTGACCAAATCCACAATTTTCCCTTGAGT ACCCTTCTCCACGTAATCGTTGATCTGTTTCT TGGCCTCTTCGGTGTCCCCGAAGTTGACAGT GAAGGCTTCTGAGTGGTACAACTTTTTAACAT CCTCCAAAAACTTATCCACTAGCTTCAGGCCC TCGCTGAGGAACAGGCCATTGCCGGTGGTCA GCTGGAGCTGGCTGTCTGGCTGGTTGAGGGT ACGGAGGAGTTCCTGGAAGCCTTCATGGATC TGAGCCTCCGGAATCTCCGTGAGGTTGAAAT TCAGGCCCTCCAGGATTTCATCGTGAGTGTC AGCCTTGGTCCCCAGGGAGAGCATTGCAAAG GCTGTAGCGATGCTCACTGGGGAGAAGAAGA TATTGGTGCTGTTGGACTGGTGTGCCAGCTG GCGGTATAGGCTGAAGGCGAACTCAGCCAGG TTGGGGGTGATCTTGTTGAAGGTTGGGTGAT CCTGATCATGGTGGGATGTATCTGTCTTCTGG GCAGCATCTCCCTGGGGATCCTCaactgtggaaaca gggagagaaaaaccacacaacatatttaaagattgatgaagacaactaac tgtaatatgctgctttttgttcttctcttcactgaccta
299	具有与小鼠 AAVS1 的同源臂的模板 AeGFP 插入构建体	tggccctggctttggcagcctgtgctgacccatgcagtcctccttaccatc cctccctcgacttccctcttccgatgttgagcccctccagccggtcctgg actttgtctccttccctgccctgccctctcctgaacctgagccagctcccat agctcagtctggtctatctgcctggccctggccattgtcactttgcgctgcc ctcctctcgcccccgagtgcccttgctgtgccgccggaactctgccctcta acgctgccgtctctctcctgagtccggaccactttgagctctactggcttct gcgccgcctctggcccactgtttccccttcccaggcaggtcctgctttctct gacctgcattctctcccctgggcctgtgccgctttctgtctgcagcttgtgg cctgggtcacctctacggctggcccagatccttccctgccgcctccttcag gttccgtcttcctccactccctcttcccctgctctctgctgtgttgctgccca aggatgctctttccggagcacttccttctcggcgctgcaccacgtgatgtc ctctgagcggatcctccccgtgtctgggtcctctccgggcatctctcctcc ctcacccaaccccatgccgtcttcactcgctgggttccctttccttctccttc tggggcctgtgccatctctcgtttcttaggatggccttctccgacggatgtct cccttgcgtcccgcctcccctttcttgtaggcctgcatcatcaccgtttttctg gacaaccccaaagtaccccgtctccctggctttagccacctctccatcctc ttgctttctttgcctggacaccccgttctcctgtggattcgggtcacctcta ctcctttcatttgggcagctcccctaccccccttacctctctagtctgtgcta gctcttccagccctagttattaatgagtaattcatacaaaaggactcgcccc tgccttggggaatcccagggaccgtcgttaaactcccactaacgtagaac ccagagatcgctgcgttcccgccccctcacccgcccgctctcgtcatcac tgaggtggagaagagcatgcgtgaggctccggtgcccgtcagtgggca gagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggagggtcgg caattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaag tgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgggggagaaccgta tataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgcaacgggtttgccgcc

[1402]

SEQ ID NO	说明	序列
		agaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttac gggttatggcccttgcgtgccttgaattacttccacgcccctggctgcagta cgtgattcttgatcccgagcttcgggttggaagtgggtgggagagttcga ggccttgcgcttaaggagcccccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctgg cttgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttcgcgcct gtctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctg cgacgctttttttctggcaagatagtcttgtaaatgcgggccaaCatctgca cactggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggcccgtgcg tcccagcgcacatgttcggcgaggcggggcctgcgagcgcggccacc gagaatcggacgggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcct ggcctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctgggcggcaaggctggcc cggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccct gctgcagggagctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcggg cgggtgagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagccgt cgcttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgatt agttctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggagggtttat gcgatggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccag cttggcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttttgagtttggatcttg gttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagtttttttcttccatttcaggtg tcgtgacgctagcgctaccggactcaatctcgagctcaagcttcgaattct gcagtcgacggtaccgcgggcccgggatccaccggtcgccaccATG gtgAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGG TGGTGCCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGA CGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGC GAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAG CTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCA AGCTGCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGAC CACCCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGC CGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACT TCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGT CCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGAC GGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAG TTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCG AGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACG GCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAA CTACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCG ACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACT TCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAG CGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAAC ACCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGC CCGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGC CCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGA TCACATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCC GCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGT ACAAGTAAtagcggccgcgactctagatcataatcagccatacca catttgtagaggttttacttgctttaaaaaacctcccacacctcccccctgaac ctgaaacataaaatgaatgcaattgttgttgttaacttgtttattgcagcttata atggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttt

SEQ ID NO	说明	序列
		tcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttaaggcgtt gggaccaccttatattcccagggccggttaatgtggctctggttctgggta cttttatctgtcccctccaccccacagtggggccactagggacaggattgg tgacagaaaagccccatccttaggcctcctccttcctagtctcctgatattg ggtctaacccccacctcctgttaggcagattccttatctggtgacacaccc ccatttcctggagccatctctctccttgccagaacctctaaggtttgcttacg atggagccagagaggatcctgggagggagagcttggcaggggggtggg agggaagggggggatgcgtgacctgcccggttctcagtggccaccctg cgctaccctctcccagaacctgagctgctctgacgcggccgtctggtgcg tttcactgatcctggtgctgcagcttccttacacttcccaagaggagaagca gtttggaaaaacaaaatcagaataagttggtcctgagttctaactttggctct tcacctttctagtccccaatttatattgttcctccgtgcgtcagttttacctgtg agataaggccagtagccagccccgtcctggcagggctgtggtgaggag gggggtgtccgtgtggaaaactccctttgtgagaatggtgcgtcctaggt gttcaccaggtcgtggccgcctctactccctttctctttctccatccttctttcc ttaaagagtccccagtgctatctgggacatattcctccgcccagagcagg gtcccgcttccctaaggccctgctctgggcttctgggtttgagtccttggca agcccaggagaggcgctcaggcttccctgtccccctttcctcgtccaccat ctcatgcccctggctctcctgccccttccctacaggggttcctggctctgct cttcagactgagccccgttcccctgcatc
300	具有与小鼠 AAVS1 的同源臂的模板 BeGFP 插入构建体	ccctgccctgccctctcctgaacctgagccagctcccatagctcagtctgg tctatctgcctggccctggccattgtcactttgcgctgccctcctctcgccc ccgagtgcccttgctgtgccgccggaactctgccctctaacgctgccgtct ctctcctgagtccggaccactttgagctctactggcttctgcgccgcctctg gcccactgtttccccttcccaggcaggtcctgctttctctgacctgcattctc tcccctgggcctgtgccgctttctgtctgcagcttgtggcctgggtcacctc tacggctggcccagatccttccctgccgcctccttcaggttccgtcttcctc cactccctcttcccccttgctctctgctgtgttgctgcccaaggatgctctttcc ggagcacttccttctcggcgctgcaccacgtgatgtcctctgagcggatc ctccccgtgtctgggtcctctccgggcatctctcctccctcacccaaccccc atgccgtcttcactcgctgggttccctttccttctccttctggggcctgtgcc atctctcgtttcttaggatggccttctccgacggatgtctcccttgcgtcccg cctccccttcttgtaggcctgcatcatcaccgtttttctggacaaccccaaa gtaccccgtctccctggctttagccacctctccatcctcttgctttctttgcct ggacaccccgttctcctgtggattcgggtcacctctcactccttttcatttggg cagctcccctaccccccttacctctctagtctgtgctagctcttccagcccc ctgtcatggcatcttccaggggtccgagagctcagctagtcttcttcctcca acccgggcccctatgtccacttcaggacagcatgtttgctgcctccaggg atcctgtgtccctagttattaatgagtaattcatacaaaaggactcgcccctg ccttggggaatcccagggaccgtcgttaaactcccactaacgtagaaccc agagatcgctgcgttcccgccccctcaccgcccgctctcgtcatcactg aggtggagaagagcatgcgtgaggctccggtgcccgtcagtgggcaga gcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggaggggtcggca attgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtg atgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgggggagaaccgtata taagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgcaacgggtttgccgcca gaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacg ggttatggcccttgcgtgccttgaattacttccacgcccctggctgcagtac

[1403]

[1404]

SEQ ID NO	说明	序列
		gtgattcttgatcccgagcttcgggttggaagtgggtgggagagttcgag gccttgcgcttaaggagcccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctggct tgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttcgcgcctgt ctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcg acgcttttttctggcaagatagtcttgtaaatgcgggccaaCatctgcaca ctggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggcccgtgcgtc ccagcgcacatgttcggcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccga gaatcggacgggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctgg cctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctgggcggcaaggctggcccg gtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgct gcagggagctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgg gtgagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgct tcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgattagtt ctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggagggtttttatgcg atggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttg gcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttttgagtttggatcttggttca ttctcaagcctcagacagtggttcaaagtttttttcttccatttcaggtgtcgtg acgctagcgctaccggactcaatctcgagctcaagcttcgaattctgcagt cgacggtaccgcgggcccgggatccaccggtcgccaccATGgtgA GCAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTGG TGCCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGT AAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGA GGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTG ACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGC TGCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCAC CCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGC TACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCT TCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCA GGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGC AACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCG AGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCT GAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAA CATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACTAC AACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACA AGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTCA AGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGT GCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACC CCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCG ACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCT GAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCA CATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCC GGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACA AGTAAtagcggccgcgactctagatcataatcagccataccacatttg tagaggttttacttgctttaaaaaacctcccacacctcccccctgaacctgaa acataaaatgaatgcaattgttgttgttaacttgtttattgcagcttataatggt tacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcact gcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttaaggcgtagaaa agccccatccttaggcctcctccttcctagtctcctgatattgggtctaaccc

[1405]

SEQ ID NO	说明	序列
		ccacctcctgttaggcagattccttatctggtgacacaccccatttcctgg agccatctctctccttgccagaacctctaaggtttgcttacgatggagccag agaggatcctgggagggagagcttggcaggggggtgggagggaaggg ggggatgcgtgacctgcccggttctcagtggccaccctgcgctaccctct cccagaacctgagctgctctgacgcggccgtctggtgcgtttcactgatc ctggtgctgcagcttccttacacttcccaagaggagaagcagtttggaaaa acaaaatcagaataagttggtcctgagttctaactttggctcttcacctttcta gtccccaatttatattgttcctccgtgcgtcagttttacctgtgagataaggc cagtagccagccccgtcctggcagggctgtggtgaggaggggggtgtc cgtgtggaaaactccctttgtgagaatggtgcgtcctaggtgttcaccagg tcgtggccgcctctactccctttctctttctccatccttctttccttaaagagtc cccagtgctatctgggacatattcctccgcccagagcagggtcccgcttc cctaaggccctgctctgggcttctgggtttgagtccttggcaagcccagga gaggcgctcaggcttccctgtcccccttcctcgtccaccatctcatgcccc tggctctcctgcccccttccctacaggggttcctggctctgctcttcagactg agccccgttcccctgcatccccgttcccctgcatcccccttccccctgcatc ccccagaggccccaggccacctacttggcctggaccccacgagaggcc accccagccctgtctaccaggctgcct
301	具有与小鼠 AAVS1 的同源臂的模板 CeGFP 插入构建体	taacgctgccgtctctctcctgagtccggaccactttgagctctactggctt ctgcgccgcctctggcccactgtttcccctttcccaggcaggtcctgctttct ctgacctgcattctctccccctgggcctgtgccgctttctgtctgcagcttgtg gcctgggtcacctctacggctggcccagatccttccctgccgcctccttca ggttccgtcttcctccactccctcttcccccttgctctctgctgtgttgctgccc aaggatgctctttccggagcacttccttctcggcgctgcaccacgtgatgt cctctgagcggatcctccccgtgtctgggtcctctccgggcatctctcctc cctcacccaaccccatgccgtcttcactcgctgggttccctttttccttctcctt ctggggcctgtgccatctctcgtttcttaggatggccttctccgacggatgt ctcccttgcgtcccgcctcccccttcttgtaggcctgcatcatcaccgtttttct ggacaaccccaaagtaccccgtctccctggctttagccacctctccatcct cttgctttctttgcctggacaccccgttctcctgtggattcgggtcacctctc actcctttcatttgggcagctcccctaccccccttacctctctagtctgtgcta gctcttccagccccctgtcatggcatcttccaggggtccgagagctcagct agtcttcttcctccaacccgggcccctatgtccacttcaggacagcatgttt gctgcctccagggatcctgtgtccccgagctgggaccaccttatattccca gggccggttaatgtggctctggttctgggtacttttatctgtcccctccaccc cacagtggggccactagggacaggattggtgacagaaaagccccatcc ttaggcctcctcctagttattaatgagtaattcatacaaaaggactcgcccct gccttggggaatcccagggaccgtcgttaaactcccactaacgtagaacc cagagatcgctgcgttcccgccccctcacccgcccgctctcgtcatcact gaggtggagaagagcatgcgtgaggctccggtgcccgtcagtgggcag agcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggaggggtcggc aattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagt gatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgggggagaaccgtat ataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgcaacgggtttgccgcca gaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacg ggttatggcccttgcgtgccttgaattacttccacgcccctggctgcagtac gtgattcttgatcccgagcttcgggttggaagtgggtgggagagttcgag gccttgcgcttaaggagcccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctggct

[1406]

SEQ ID NO	说明	序列
		tgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttcgcgcctgt ctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcg acgctttttttctggcaagatagtcttgtaaatgcgggccaaCatctgcaca ctggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggcccgtgcgtc ccagcgcacatgttcggcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccga gaatcggacgggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctgg cctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctgggcggcaaggctggcccg gtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgct gcagggagctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgg gtgagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgct tcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgattagtt ctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggagggttttatgcg atggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttg gcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttttgagtttggatcttggttca ttctcaagcctcagacagtggttcaaagttttttttcttccatttcaggtgtcgtg acgctagcgctaccggactcaatctcgagctcaagcttcgaattctgcagt cgacggtaccgcgggcccgggatccaccggtcgccaccATGgtgA GCAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTGG TGCCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGT AAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGA GGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTG ACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGC TGCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCAC CCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGC TACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCT TCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCA GGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGC AACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCG AGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCT GAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAA CATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACTAC AACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACA AGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTCA AGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGT GCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACC CCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCG ACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCT GAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCA CATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCC GGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACA AGTAAtagcggccgcgactctagatcataatcagccataccacatttg tagaggttttacttgctttaaaaaacctcccacacctcccccgaacctgaa acataaaatgaatgcaattgttgttgttaacttgtttattgcagcttataatggt tacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcact gcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttaaggcgttacgat ggagccagagaggatcctgggagggagagcttggcaggggggtggga gggaaggggggatgcgtgacctgcccggttctcagtggccaccctgc gctaccctctcccagaacctgagctgctctgacgcggccgtctggtgcgt

[1407]

SEQ ID NO	说明	序列
		ttcactgatcctggtgctgcagcttccttacacttcccaagaggagaagca gtttggaaaaacaaaatcagaataagttggtcctgagttctaactttggctct tcacctttctagtccccaatttatattgttcctccgtgcgtcagttttacctgtg agataaggccagtagccagccccgtcctggcagggctgtggtgaggag gggggtgtccgtgtggaaaactccctttgtgagaatggtgcgtcctaggt gttcaccaggtcgtggccgcctctactccctttctctttctccatccttctttcc ttaaagagtccccagtgctatctgggacatattcctccgcccagagcagg gtcccgcttccctaaggccctgctctgggcttctgggtttgagtccttggca agcccaggagaggcgctcaggcttccctgtccccttcctcgtccaccat ctcatgcccctggctctcctgccccttccctacaggggttcctggctctgct cttcagactgagccccgttcccctgcatccccgttcccctgcatccccctc ccctgcatccccagaggccccaggccacctacttggcctggaccccac gagaggccaccccagccctgtctaccaggctgccttttgggtggattctc ctccaactgtggggtgactgcttggcaaactcactcttcggggtatcccag gaggcctggagcattggggtgggctggggttcagagaggagggattcc cttctcaggttacgtggccaagaagcaggggagc
302	具有与小鼠 AAVS1 的同源臂的模板 DeGFP 插入构建体	gtttccccttcccaggcaggtcctgctttctctgacctgcattctctccccctg ggcctgtgccgctttctgtctgcagcttgtggcctgggtcacctctacggct ggcccagatccttccctgccgcctccttcaggttccgtcttcctccactccc tcttcccctgctctctgctgtgttgctgcccaaggatgctctttccggagca cttccttctcggcgctgcaccacgtgatgtcctctgagcggatcctccccg tgtctgggtcctctccgggcatctctcctccctcacccaaccccatgccgt cttcactcgctgggttccctttttccttctccttctggggcctgtgccatctctc gtttcttaggatggccttctccgacggatgtctcccttgcgtcccgcctccc cttcttgtaggcctgcatcatcaccgtttttctggacaaccccaaagtaccc cgtctccctggctttagccacctctccatcctcttgctttctttgcctggacac cccgttctcctgtggattcgggtcacctctcactcctttcatttgggcagctc ccctacccccccttacctctctagtctgtgctagctcttccagccccctgtcat ggcatcttccaggggtccgagagctcagctagtcttcttcctccaacccgg gcccctatgtccacttcaggacagcatgtttgctgcctccagggatcctgt gtccccgagctgggaccaccttatattcccagggccggttaatgtggctct ggttctgggtacttttatctgtcccctccaccccacagtggggccactagg gacaggattggtgacagaaaagccccatccttaggcctcctccttcctagt ctcctgatattgggtctaacccccacctcctgttaggcagattccttatctgg tgacacacccccctagttattaatgagtaattcatacaaaaggactcgcccct gccttggggaatcccagggaccgtcgttaaactcccactaacgtagaacc cagagatcgctgcgttcccgccccctcaccgcccgctctcgtcatcact gaggtggagaagagcatgcgtgaggctccggtgcccgtcagtgggcag agcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggaggggtcggc aattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagt gatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgggggagaaccgtat ataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgcaacgggtttgccgcca gaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacg ggttatggcccttgcgtgccttgaattacttccacgcccctggctgcagtac gtgattcttgatcccgagcttcgggttggaagtgggtgggagagttcgag gccttgcgcttaaggagcccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctggct tgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttcgcgcctgt ctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcg

[1408]

SEQ ID NO	说明	序列
		acgctttttttctggcaagatagtcttgtaaatgcgggccaaCatctgcaca ctggtatttcggtttttggggccgcgggcggcgacggggcccgtgcgtc ccagcgcacatgttcggcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccga gaatcggacgggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctgg cctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctgggcggcaaggctggcccg gtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgct gcagggagctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgg gtgagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgct tcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgattagtt ctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggagggttttatgcg atggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttg gcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttttgagtttggatcttggttca ttctcaagcctcagacagtggttcaaagttttttttcttccatttcaggtgtcgtg acgctagcgctaccggactcaatctcgagctcaagcttcgaattctgcagt cgacggtaccgcgggcccgggatccaccggtcgccaccATGgtgA GCAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTGG TGCCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGT AAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGA GGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTG ACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGC TGCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCAC CCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGC TACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCT TCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCA GGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGC AACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCG AGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCT GAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAA CATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACTAC AACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACA AGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTCA AGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGT GCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACC CCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCG ACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCT GAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCA CATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCC GGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACA AGTAAtagcggccgcgactctagatcataatcagccataccacatttg tagaggttttacttgctttaaaaaacctcccacacctcccccctgaacctgaa acataaaatgaatgcaattgttgttgttaacttgtttattgcagcttataatggt tacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcact gcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttaaggcgtcggttc tcagtggccaccctgcgctaccctctcccagaacctgagctgctctgacg cggccgtctggtgcgtttcactgatcctggtgctgcagcttccttacacttc ccaagaggagaagcagtttggaaaaacaaaatcagaataagttggtcct gagttctaactttggctcttcacctttctagtccccaatttatattgttcctccgt gcgtcagttttacctgtgagataaggccagtagccagccccgtcctggca

[1409]

SEQ ID NO	说明	序列
		gggctgtggtgaggaggggggtgtccgtgtggaaaactccctttgtgag aatggtgcgtcctaggtgttcaccaggtcgtggccgcctctactccctttct ctttctccatccttctttccttaaagagtccccagtgctatctgggacatattc ctccgcccagagcagggtcccgcttccctaaggccctgctctgggcttct gggtttgagtccttggcaagcccaggagaggcgctcaggcttccctgtcc cccttcctcgtccaccatctcatgcccctggctctcctgccccttccctaca ggggttcctggctctgctcttcagactgagccccgttcccctgcatccccg ttcccctgcatccccctttcccctgcatccccccagaggccccaggccacct acttggcctggaccccacgagaggccaccccagccctgtctaccaggct gcctttgggtggattctcctccaactgtggggtgactgcttggcaaactca ctcttcggggtatcccaggaggcctggagcattggggtgggctggggtt cagagaggagggattcccttctcaggttacgtggccaagaagcagggg agctgggtttgggtcaggtctgggtgtggggtgaccagcttatgctgtttg cccaggacagcctagttttagcactgaaac
303	具有与小鼠 AAVS1 的同源臂的模板 OG eGFP 插入构建体	actagtccgcgggcggccgcgctgccctcctctcgccccgagtgccct tgctgtgccgccggaactctgccctctaacgctgccgtctctctcctgagt ccggaccactttgagctctactggcttctgcgccgcctctggcccactgttt ccccttcccaggcaggtcctgctttctctgacctgcattctctcccctgggc ctgtgccgctttctgtctgcagcttgtggcctgggtcacctctacggctggc ccagatccttccctgccgcctccttcaggttccgtcttcctccactccctctt ccccttgctctctgctgtgttgctgcccaaggatgctctttccggagcacttc cttctcggcgctgcaccacgtgatgtcctctgagcggatcctccccgtgtc tgggtcctctccgggcatctctcctccctcacccaaccccatgccgtcttca ctcgctgggttccctttccttctccttctggggcctgtgccatctctcgtttct taggatggccttctccgacggatgtctcccttgcgtcccgcctcccccttctt gtaggcctgcatcatcaccgtttttctggacaaccccaaagtaccccgtct ccctggctttagccacctctccatcctcttgctttctttgcctggacaccccg ttctcctgtggattcgggtcacctctcactcctttcatttgggcagctcccta ccccccttacctctctagtctgtgctagctcttccagccccctgtcatggcat cttccaggggtccgagagctcagctagtcttcttcctccaacccgggccc ctatgtccacttcaggacagcatgtttgctgcctccagggatcctgtgtccc cgagctgggaccaccttatattcccagggccggttaatgtggctctggttc tgggtacttttatctgtcccctccaccccacagttagttattaatgagtaattc atacaaaaggactcgcccctgccttggggaatcccagggaccgtcgtta aactcccactaacgtagaacccagagatcgctgcgttcccgccccctcac ccgcccgctctcgtcatcactgaggtggagaagagcatgcgtgaggctc cggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaa gttgggggggaggggtcggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcg cggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccga gggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttctttt tcgcaacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttccc gcgggcctggcctctttacgggttatggcccttgcgtgccttgaattacttc cacgcccctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagcttcgggttggaa gtgggtgggagagttcgaggccttgcgcttaaggagccccttcgcctcgt gcttgagttgaggcctggcttgggcgctggggccgccgcgtgcgaatct ggtggcaccttcgcgcctgtctcgctgctttcgataagtctctagccatttaa aatttttgatgacctgctgcgacgctttttttctggcaagatagtcttgtaaat gcgggccaacatctgcacactggtatttcggtttttggggccgcgggcgg

[1410]

SEQ ID NO	说明	序列
		cgacggggcccgtgcgtcccagcgcacatgttcggcgaggcggggcc tgcgagcgcggccaccgagaatcggacgggggtagtctcaagctggcc ggcctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctg ggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagat ggccgcttcccggccctgctgcagggagctcaaaatggaggacgcggc gctcgggagagcgggcgggtgagtcacccacacaaaggaaaagggc ctttccgtcctcagccgtcgcttcatgtgactccacggagtaccgggcgcc gtccaggcacctcgattagttctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggtt gggggggagggttttatgcgatggagtttccccacactgagtgggtgga gactgaagttaggccagcttggcacttgatgtaattctccttggaatttgcc ctttttgagtttggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagt ttttttcttccatttcaggtgtcgtgacaccggtcgccaccatggtgAGC AAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTGGTG CCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTAA ACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGG GCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGAC CCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGCTG CCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCACCC TGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTA CCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCTTC AAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGG AGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAA CTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAG GGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGA AGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACAT CCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACTACAAC AGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGC AGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTCAAGAT CCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCA GCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACCCCC ATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGACA ACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAG CAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACAT GGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCGGG ATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGta atagcggccgcgactctagatcataatcagccataccacatttgtagaggt tttacttgctttaaaaaacctcccacacctccccctgaacctgaaacataaa atgaatgcaattgttgttgttaacttgtttattgcagcttataatggttacaaat aaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattcta gttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttaaggcgttttcctggagccat ctctctccttgccagaacctctaaggtttgcttacgatggagccagagagg atcctgggagggagagcttggcaggggtgggagggaaggggggga tgcgtgacctgcccggttctcagtggccaccctgcgctaccctctcccag aacctgagctgctctgacgcggccgtctggtgcgtttcactgatcctggtg ctgcagcttccttacacttcccaagaggagaagcagtttggaaaaacaaa atcagaataagttggtcctgagttctaactttggctcttcacctttctagtccc caatttatattgttcctccgtgcgtcagttttacctgtgagataaggccagta gccagccccgtcctggcagggctgtggtgaggaggggggtgtccgtgt

[1411]

SEQ ID NO	说明	序列
		ggaaaactcccttgtgagaatggtgcgtcctaggtgttcaccaggtcgtg gccgcctctactccctttctctttctccatccttctttccttaaagagtccccag tgctatctgggacatattcctccgcccagagcagggtcccgcttcccctaag gccctgctctgggcttctgggtttgagtccttggcaagcccaggagaggc gctcaggcttccctgtccccctttcctcgtccaccatctcatgcccctggctc tcctgcccccttccctacaggggttcctggctctgctcttcagactgagcccc gttcccctgcatccccgttcccctgcatccccctttccctgcatccccccag aggccccaggccacctacttggcctggaccccacgagaggccaccccca gccctgtctaccaggctgccttttgggtggattctcctccaactgtggggtg actgcttggcaaactcactcttcggggtatcccaggaggcctggagcatt ggggtgggctggggttcagaggcggccgcccgcggactagt
304	双向 NanoLuc 插入构建体	TTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCT CACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCG ACGCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCTCAGTG AGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCC AACTCCATCACTAGGGGTTCCTagatctctATAAC TTCGTATAGCATACATTATACGAAGTTATATGT ATGCtaggtcagtgaagagaagaacaaaaagcagcatattacagtta gttgtcttcatcaatctttaaatatgttgtgtggtttttctctccctgtttccacag tttttcttgatcatgaaaacgccaacaaaattctgaatcggccaaagaggta taattcaggtaaattggaagagtttgttcaagggaaccttgagagagaatg tatggaagaaaagtgtagttttgaagaagcaGTATTCACTTTGG AGGACTTTGTCGGTGACTGGAGGCAAACCGC TGGTTATAATCTCGACCAaGTACTGGAACAGG GCGGGGTAAGTTCCCTCTTTCAGAATTTGGGT GTAAGCGTCACACCAATCCAGCGGATTGTGT TGTCTGGAGAGAACGGACTCAAAATTGACAT CCATGTTATCATTCCATATGAAGGTCTCAGTG GAGACCAAATGGGGCAGATCGAGAAGATTTT CAAGGTAGTTTACCCAGTCGACGATCACCAC TTCAAAGTCATtCTCCACTATGGCACACTTGTT ATCGACGGAGTAACTCCTAATATGATTGATTA CTTTGGTCGCCCGTATGAGGGCATCGCAGTGT TTGATGGCAAAAAGATCACCGTAACAGGAAC GTTGTGGAATGGGAACAAGATAATCGACGAG AGATTGATAAATCCAGACGGGTCACTCCTGTT CAGGGTTACAATTAACGGCGTCACAGGATGG AGACTCTGTGAACGAATACTGGCCacaaatttttcac tcctgaagcaggccggagacgtggaggaaaacccagggcccgtgAG CAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTGGT GCCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTA AACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAG GGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGA CCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGCT GCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCACC CTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCT ACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCTT CAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAG

[1412]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCA ACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGA GGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTG AAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAAC ATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACTACA ACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAA GCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTCAA GATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTG CAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACCC CCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGA CAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTG AGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCAC ATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCG GGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAA GGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAA AGGTCTAAcctCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCA GCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCTT CCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGT CCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGC ATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGG GGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAG GATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGG ATGCGGTGGGCTCTATGGcttctgaggcggaaagaacca gctggggctctaggggtatccccAAAAAACCTCCCACA CCTCCCCCTGAACCTGAAACATAAAATGAAT GCAATTGTTGTTGTTAACTTGTTTATTGCAGC TTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCA CAAATTTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTG CATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAA TGTATCTTATCATGTCTGTTACACCTTCCTCTT CTTCTTGGGGCTGCCGCCGCCCTTGTACAGCT CGTCCATGCCCAGGGTGATGCCGGCGGCGGT CACGAACTCCAGCAGCACCATGTGGTCCCTC TTCTCGTTGGGGTCCTTGCTCAGGGCGCTCT GGGTGCTCAGGTAGTGGTTGTCGGGCAGCAG CACGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCTGC TGGTAGTGGTCGGCCAGCTGCACGCTGCCGT CCTCGATGTTGTGCCTGATCTTGAAGTTCACC TTGATGCCGTTCTTCTGCTTGTCGGCCATGAT GTACACGTTGTGGCTGTTGTAGTTGTACTCCA GCTTGTGGCCCAGGATGTTGCCGTCCTCCTTG AAGTCGATGCCCTTCAGCTCGATCCTGTTCAC CAGGGTGTCGCCCTCGAACTTCACCTCGGCC CTGGTCTTGTAGTTGCCGTCGTCCTTGAAGA AGATGGTCCTCTCCTGCACGTAGCCCTCGGG CATGGCGCTCTTGAAGAAGTCGTGCTGCTTC ATGTGGTCGGGGTACCTGCTGAAGCACTGCA CGCCGTAGGTCAGGGTGGTCACCAGGGTGGG

[1413]

SEQ ID NO	说明	序列
		CCAGGGCACGGGCAGCTTGCCGGTGGTGCA GATGAACTTCAGGGTCAGCTTGCCGTAGGTG GCGTCGCCCTCGCCCTCGCCGCTCACGCTGA ACTTGTGGCCGTTCACGTCGCCGTCCAGCTC CACCAGGATGGGCACCACGCCGGTGAACAG CTCCTCGCCCTTGCTCACGGGGCCGGGGTTC TCCTCCACGTCGCCGGCCTGCTTCAGCAGGC TGAAGTTGGTGGCCAGGATCCTCTCGCACAG CCTCCAGCCGGTCACGCCGTTGATGGTCACC CTGAACAGCAGGCTGCCGTCGGGGTTGATCA GCCTCTCGTCGATGATCTTGTTGCCGTTCCAC AGGGTGCCGGTCACGGTGATCTTCTTGCCGT CGAACACGGCGATGCCCTCGTAGGGCCTGCC GAAGTAGTCGATCATGTTGGGGGTCACGCCG TCGATCACCAGGGTGCCGTAGTGCAGGATCA CCTTGAAGTGGTGGTCGTCCACGGGGTACAC CACCTTGAAAATCTTCTCGATCTGGCCCATCT GGTCGCCGCTCAGGCCCTCGTAGGGGATGAT CACGTGGATGTCGATCTTCAGGCCGTTCTCGC CGCTCAGCACGATCCTCTGGATGGGGGTCAC GCTCACGCCCAGGTTCTGGAACAGGCTGCTC ACGCCGCCCTGCTCCAGCACCTGGTCCAGGT TGTAGCCGGCGGTCTGCCTCCAGTCGCCCAC GAAGTCCTCCAGGGTGAACACGGCCTCCTCG AAGCTGCACTTCTCCTCCATGCACTCCCTCTC CAGGTTGCCCTGCACGAACTCCTCCAGCTTG CCGCTGTTGTACCTCTTGGGCCTGTTCAGGAT CTTGTTGGCGTTCTCGTGGTCCAGGAAaactgtg gaaacagggagagaaaaaccacacaacatatttaaagattgatgaagac aactaactgtaatatgctgctttttgttcttctcttcactgacctaATGTAT GCATAACTTCGTATAGCATACATTATACGAAGT TATagagatctAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGG CCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACT GAGGCCGCCCGGGCAAAGCCCGGGCGTCGG GCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCG AGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAA
305	Nme2 Cas9 的开放阅读框	AUGGAGGCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGG CACCUGAUGGACCCCCACAUCUUCACCUCC AACUUCAACAACGGCAUCGGCCGGCACAAG ACCUACCUGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUG GACAACGGCACCUCCGUGAAGAUGGACCAG CACCGGGGCUUCCUGCACAACCAGGCCAAG AACCUGCUGUGCGGCUUCUACGGCCGGCAC GCCGAGCUGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCC UCCCUGCAGCUGGACCCCGCCCAGAUCUAC CGGGUGACCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCC UGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUG CGGGCCUUCCUGCAGGAGAACACCCACGUG

[1414]

SEQ ID NO	说明	序列
		CGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUAC
		GACUACGACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUG
		CAGAUGCUGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUG
		UCCAUCAUGACCUACGACGAGUUCAAGCAC
		UGCUGGGACACCUUCGUGGACCACCAGGGC
		UGCCCCUUCCAGCCCUGGGACGGCCUGGAC
		GAGCACUCCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUG
		CGGGCCAUCCUGCAGAACCAGGGCAACUCC
		GGCUCCGAGACCCCCGGCACCUCCGAGUCC
		GCCACCCCCGAGUCCGACAAGAAGUACUCC
		AUCGGCCUGGCCAUCGGCACCAACUCCGUG
		GGCUGGGCCGUGAUCACCGACGAGUACAAG
		GUGCCCUCCAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGC
		AACACCGACCGGCACUCCAUCAAGAAGAAC
		CUGAUCGGCGCCCUGCUGUUCGACUCCGGC
		GAGACCGCCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGG
		ACCGCCCGGCGGCGGUACACCCGGCGGAAG
		AACCGGAUCUGCUACCUGCAGGAGAUCUUC
		UCCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACUCC
		UUCUUCCACCGGCUGGAGGAGUCCUUCCUG
		GUGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCAC
		CCCAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUG
		GCCUACCACGAGAAGUACCCCACCAUCUAC
		CACCUGCGGAAGAAGCUGGUGGACUCCACC
		GACAAGGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUG
		GCCCUGGCCCACAUGAUCAAGUUCCGGGGC
		CACUUCCUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCC
		GACAACUCCGACGUGGACAAGCUGUUCAUC
		CAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGCUGUUC
		GAGGAGAACCCCAUCAACGCCUCCGGCGUG
		GACGCCAAGGCCAUCCUGUCCGCCCGGCUG
		UCCAAGUCCCGGCGGCUGGAGAACCUGAUC
		GCCCAGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGC
		CUGUUCGGCAACCUGAUCGCCCUGUCCCUG
		GGCCUGACCCCCAACUUCAAGUCCAACUUC
		GACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUG
		UCCAAGGACACCUACGACGACGACCUGGAC
		AACCUGCUGGCCCAGAUCGGCGACCAGUAC
		GCCGACCUGUUCCUGGCCGCCAAGAACCUG
		UCCGACGCCAUCCUGCUGUCCGACAUCCUG
		CGGGUGAACACCGAGAUCACCAAGGCCCCC
		CUGUCCGCCUCCAUGAUCAAGCGGUACGAC
		GAGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAG
		GCCCUGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGAGAAG
		UACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGUCCAAG
		AACGGCUACGCCGGCUACAUCGACGGCGGC
		GCCUCCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCAUC
		AAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACC

[1415]

SEQ ID NO	说明	序列
		GAGGAGCUGCUGGUGAAGCUGAACCGGGA
		GGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACCUUCGA
		CAACGGCUCCAUCCCCCACCAGAUCCACCU
		GGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGCGGCGGCA
		GGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAA
		CCGGGAGAAGAUCGAGAAGAUCCUGACCUU
		CCGGAUCCCCUACUACGUGGGCCCCCUGGC
		CCGGGGCAACUCCCGGUUCGCCUGGAUGAC
		CCGGAAGUCCGAGGAGACCAUCACCCCCUG
		GAACUUCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCG
		CCUCCGCCCAGUCCUUCAUCGAGCGGAUGA
		CCAACUUCGACAAGAACCUGCCCAACGAGA
		AGGUGCUGCCCAAGCACUCCCUGCUGUACG
		AGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGACCA
		AGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGCGG
		AAGCCCGCCUUCCUGUCCGGCGAGCAGAAG
		AAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACC
		AACCGGAAGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAG
		GAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUC
		GACUCCGUGGAGAUCUCCGGCGUGGAGGAC
		CGGUUCAACGCCUCCCUGGGCACCUACCAC
		GACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGAC
		UUCCUGGACAACGAGGAGAACGAGGACAUC
		CUGGAGGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUG
		UUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGCG
		GCUGAAGACCUACGCCCACCUGUUCGACGA
		CAAGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCG
		GUACACCGGCUGGGGCCGGCUGUCCCGGAA
		GCUGAUCAACGGCAUCCGGGACAAGCAGUC
		CGGCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGAAGUC
		CGACGGCUUCGCCAACCGGAACUUCAUGCA
		GCUGAUCCACGACGACUCCCUGACCUUCAA
		GGAGGACAUCCAGAAGGCCCAGGUGUCCGG
		CCAGGGCGACUCCCUGCACGAGCACAUCGC
		CAACCUGGCCGGCUCCCCCGCCAUCAAGAA
		GGGCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGGA
		CGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAA
		GCCCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCCG
		GGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAA
		GAACUCCCGGGAGCGGAUGAAGCGGAUCGA
		GGAGGGCAUCAAGGAGCUGGGCUCCCAGAU
		CCUGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCA
		GCUGCAGAACGAGAAGCUGUACCUGUACUA
		CCUGCAGAACGGCCGGGACAUGUACGUGGA
		CCAGGAGCUGGACAUCAACCGGCUGUCCGA
		CUACGACGUGGACCACAUCGUGCCCCAGUC
		CUUCCUGAAGGACGACUCCAUCGACAACAA
		GGUGCUGACCCGGUCCGACAAGAACCGGGG

[1416]

SEQ ID NO	说明	序列
		CAAGUCCGACAACGUGCCCUCCGAGGAGGU
		GGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGC
		AGCUGCUGAACGCCAAGCUGAUCACCCAGC
		GGAAGUUCGACAACCUGACCAAGGCCGAGC
		GGGGCGGCCUGUCCGAGCUGGACAAGGCCG
		GCUUCAUCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACCC
		GGCAGAUCACCAAGCACGUGGCCCAGAUCC
		UGGACUCCCGGAUGAACACCAAGUACGACG
		AGAACGACAAGCUGAUCCGGGAGGUGAAG
		GUGAUCACCCUGAAGUCCAAGCUGGUGUCC
		GACUUCCGGAAGGACUUCCAGUUCUACAAG
		GUGCGGGAGAUCAACAACUACCACCACGCC
		CACGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGC
		ACCGCCCUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUG
		GAGUCCGAGUUCGUGUACGGCGACUACAAG
		GUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUCGCCAAG
		UCCGAGCAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCC
		AAGUACUUCUUCUACUCCAACAUCAUGAAC
		UUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUGGCCAAC
		GGCGAGAUCCGGAAGCGGCCCCUGAUCGAG
		ACCAACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGG
		GACAAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGG
		AAGGUGCUGUCCAUGCCCCAGGUGAACAUC
		GUGAAGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGC
		UUCUCCAAGGAGUCCAUCCUGCCCAAGCGG
		AACUCCGACAAGCUGAUCGCCCGGAAGAAG
		GACUGGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUC
		GACUCCCCCACCGUGGCCUACUCCGUGCUG
		GUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGCAAGUC
		CAAGAAGCUGAAGUCCGUGAAGGAGCUGCU
		GGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGUCCUCCUU
		CGAGAAGAACCCCAUCGACUUCCUGGAGGC
		CAAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACC
		UGAUCAUCAAGCUGCCCAAGUACUCCCUGU
		UCGAGCUGGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGC
		UGGCCUCCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCA
		ACGAGCUGGCCCUGCCCUCCAAGUACGUGA
		ACUUCCUGUACCUGGCCUCCCACUACGAGA
		AGCUGAAGGGCUCCCCCGAGGACAACGAGC
		AGAAGCAGCUGUUCGUGGAGCAGCACAAGC
		ACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCU
		CCGAGUUCUCCAAGCGGGUGAUCCUGGCCG
		ACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGUCCGCCU
		ACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAUCCGGG
		AGCAGGCCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCA
		CCCUGACCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCU
		UCAAGUACUUCGACACCACCAUCGACCGGA
		AGCGGUACACCUCCACCAAGGAGGUGCUGG

[1417]

SEQ ID NO	说明	序列
		ACGCCACCCUGAUCCACCAGUCCAUCACCG GCCUGUACGAGACCCGGAUCGACCUGUCCC AGCUGGGCGGCGACGGCGGCGGCUCCCCCA AGAAGAAGCGGAAGGUGUGA
306	Sp. BC22n 碱基编辑器的开放阅读框	ATGgaggccTccccgccTccggcccccggcaccTgaTggaccc ccacaTcTTcaccTccAACTTCAACAACggcATCggcc ggCACAAGaccTACCTGTGCTACgaggTggagcggC TGGACAACggcaccTccgTgAAGATGGACCAGCA CcgggcTTCCTGCACAACCAGgccAAGAACCT GCTGTGCggcTTCTACggccggCACgccgagCTGcgg TTCCTGGACCTGgTgcccTccCTGCAGCTGGACc ccgccCAGATCTACcgggTgaccTGGTTCATCTccTG GTccccTGCTTCTccTGGggcTGCgccggcgaggTgcg ggccTTCCTGCAGgagAACaccCACgTgcggCTGcgg ATCTTCgccgcccggATCTACGACTACGACcccCTG TACAAGgaggccCTGCAGATGCTGcggGACgccggc gccCAGgTgTccATCATGaccTACGACgagTTCAAG CACTGCTGGGACaccTTCgTgGACCACCAGggc TGCcccTTCCAGcccTGGGACggcCTGGACgagCA CTccCAGgccCTGTccggccggCTGcgggccATCCTGC AGAACCAGggcAACTccggcTccgagacccccggcaccT ccgagTccgccacccccgagTccgacaagaagTacTccaTcggcc TggCcaTcggcaccaacTccgTgggcTgggccgTgaTcaccga cgagTacaaggTgcccTccaagaagTTcaaggTgcTgggcaaca ccgaccggcacTccaTcaagaagaaccTgaTcggcgcccTgcTg TTcgacTccggcgagaccgccgaggccacccggcTgaagcggacc gcccggcggcggTacacccggcggaagaaccggaTcTgcTaccT gcaggagaTcTTcTccaacgagaTggccaaggTggacgacTccT TcTTccaccggcTggaggagTccTTccTggTggaggaggacaa gaagcacgagcggcacccaTcTTcggcaacaTcgTggacgagg TggccTaccacgagaagTaccccaccaTcTaccaccTgcggaaga agcTggTggacTccaccgacaaggccgaccTgcggcTgaTcTac cTggcccTggcccacaTgaTcaagTTccggggccacTTccTga TcgagggcgaccTgaaccccgacaacTccgacgTggacaagcTg TTcaTccagcTggTgcagaccTacaaccagcTgTTcgaggagaa ccccaTcaacgccTccggcgTggacgccaaggccaTccTgTccgc ccggcTgTccaagTcccggcggcTggagaaccTgaTcgcccagc TgcccggcgagaagaagaacggccTgTTcggcaaccTgaTcgcc cTgTcccTgggccTgacccccaacTTcaagTccaacTTcgaccT ggccgaggacgccaagcTgcagcTgTccaaggacaccTacgacga cgaccTggacaaccTgcTggcccagaTcggcgaccagTacgccg accTgTTccTggccgccaagaaccTgTccgacgccaTccTgcT gTccgacaTccTgcgggTgaacaccgagaTcaccaaggcccccc TgTccgccTccaTgaTcaagcggTacgacgagcaccaccaggacc TgacccTgcTgaaggcccTggTgcggcagcagcTgcccgagaa gTacaaggagaTcTTcTTcgaccagTccaagaacggcTacgccg gcTacaTcgacggcggcgccTcccaggaggagTTcTacaagTTc aTcaagcccaTccTggagaagaTggacggcaccgaggagcTgcT

[1418]

SEQ ID NO	说明	序列
		ggTgaagcTgaaccgggaggaccTgcTgcggaagcagcggaccT TcgacaacggcTccaTccccccaccagaTccaccTgggcgagcTgc acgccaTccTgcggcggcaggaggacTTcTaccccTTccTgaag gacaaccgggagaagaTcgagaagaTccTgaccTTccggaTcccc TacTacgTgggcccccTggcccggggcaacTcccggTTcgccTg gaTgacccggaagTccgaggagaccaTcacccccTggaacTTcg aggaggTggTggacaagggcgccTccgcccagTccTTcaTcgag cggaTgaccaacTTcgacaagaaccTgcccaacgagaaggTgcT gcccaagcacTcccTgcTgTacgagTacTTcaccgTgTacaacg agcTgaccaaggTgaagTacgTgaccgagggcaTgcggaagccc gccTTccTgTccggcgagcagaagaaggccaTcgTggaccTgc TgTTcaagaccaaccggaaggTgaccgTgaagcagcTgaaggag gacTacTTcaagaagaTcgagTgcTTcgacTccgTggagaTcT ccggcgTggaggaccggTTcaacgccTcccTgggcaccTaccac gaccTgcTgaagaTcaTcaaggacaaggacTTccTggacaacga ggagaacgaggacaTccTggaggacaTcgTgcTgacccTgaccc TgTTcgaggaccgggagaTgaTcgaggagcggcTgaagaccTa cgcccaccTgTTcgacgacaaggTgaTgaagcagcTgaagcggc ggcggTacaccggcTggggccggcTgTcccggaagcTgaTcaac ggcaTccgggacaagcagTccggcaagaccaTccTggacTTccT gaagTccgacggcTTcgccaaccggaacTTcaTgcagcTgaTcc acgacgacTcccTgaccTTcaaggaggacaTccagaaggcccagg TgTccggccagggcgacTcccTgcacgagcacaTcgccaaccTg gccggcTcccccgccaTcaagaagggcaTccTgcagaccgTgaag gTggTggacgagcTggTgaaggTgaTgggccggcacaagcccg agaacaTcgTgaTcgagaTggcccgggagaaccagaccacccaga agggccagaagaacTcccgggagcggaTgaagcggaTcgaggag ggcaTcaaggagcTgggcTcccagaTccTgaaggagcaccccgT ggagaacacccagcTgcagaacgagaagcTgTaccTgTacTacc TgcagaacggccgggacaTgTacgTggaccaggagcTggacaTc aaccggcTgTccgacTacgacgTggaccacaTcgTgccccagTc cTTccTgaaggacgacTccaTcgacaacaaggTgcTgacccggT ccgacaagaaccggggcaagTccgacaacgTgcccTccgaggagg TggTgaagaagaTgaagaacTacTggcggcagcTgcTgaacgc caagcTgaTcacccagcggaagTTcgacaaccTgaccaaggccga gcggggcggccTgTccgagcTggacaaggccggcTTcaTcaagc ggcagcTggTggagacccggcagaTcaccaagcacgTggcccag aTccTggacTcccggaTgaacaccaagTacgacgagaacgacaag cTgaTccgggaggTgaaggTgaTcacccTgaagTccaagcTgg TgTccgacTTccggaaggacTTccagTTcTacaaggTgcggga gaTcaacaacTaccaccacgcccacgacgccTaccTgaacgccgT ggTgggcaccgcccTgaTcaagaagTaccccaagcTggagTccg agTTcgTgTacggcgacTacaaggTgTacgacgTgcggaagaT gaTcgccaagTccgagcaggagaTcggcaaggccaccgccaagTa cTTcTTcTacTccaacaTcaTgaacTTcTTcaagaccgagaTca cccTggccaacggcgagaTccggaagcggccccTgaTcgagacca acggcgagaccggcgagaTcgTgTgggacaagggccgggacTTc gccaccgTgcggaaggTgcTgTccaTgccccaggTgaacaTcg

SEQ ID NO	说明	序列
		TgaagaagaccgaggTgcagaccggcggcTTcTccaaggagTcc aTccTgcccaagcggaacTccgacaagcTgaTcgcccggaagaag gacTgggaccccaagaagTacggcggcTTcgacTcccccaccgT ggccTacTccgTgcTggTggTggccaaggTggagaagggcaag TccaagaagcTgaagTccgTgaaggagcTgcTgggcaTcacca TcaTggagcggTccTccTTcgagaagaaccccaTcgacTTccTg gaggccaagggcTacaaggaggTgaagaaggaccTgaTcaTcaa gcTgcccaagTacTcccTgTTcgagcTggagaacggccggaagc ggaTgcTggccTccgccggcgagcTgcagaagggcaacgagcTg gcccTgcccTccaagTacgTgaacTTccTgTaccTggccTccca cTacgagaagcTgaagggcTcccccgaggacaacgagcagaagca gcTgTTcgTggagcagcacaagcacTaccTggacgagaTcaTcg agcagaTcTccgagTTcTccaagcgggTgaTccTggccgacgcc aaccTggacaaggTgcTgTccgccTacaacaagcaccgggacaag cccaTccgggagcaggccgagaacaTcaTccaccTgTTcacccT gaccaaccTgggcgcccccgccgccTTcaagTacTTcgacaccac caTcgaccggaagcggTacaccTccaccaaggaggTgcTggacg ccacccTgaTccaccagTccaTcaccggccTgTacgagacccgga TcgaccTgTcccagcTgggcggcgacggcggcggcTcccccaag aagaagcggaaggTgTgA
307	Sp. Cas9 的开放阅读框	aTggacaagaagTacTccaTcggccTggacaTcggcaccaacTcc gTgggcTgggccgTgaTcaccgacgagTacaaggTgcccTccaa gaagTTcaaggTgcTgggcaacaccgaccggcacTccaTcaaga agaaccTgaTcggcgcccTgcTgTTcgacTccggcgagaccgcc gaggccacccggcTgaagcggaccgcccggcggcggTacacccgg cggaagaaccggaTcTgcTaccTgcaggagaTcTTcTccaacga gaTggccaaggTggacgacTccTTcTTccaccggcTggaggag TccTTccTggTggaggaggacaagaagcacgagcggcaccccaT cTTcggcaacaTcgTggacgaggTggccTaccacgagaagTacc ccaccaTcTaccaccTgcggaagaagcTggTggacTccaccgaca aggccgaccTgcggcTgaTcTaccTggcccTggcccacaTgaTc aagTTccggggccacTTccTgaTcgagggcgaccTgaaccccga caacTccgacgTggacaagcTgTTcaTccagcTggTgcagacc TacaaccagcTgTTcgaggagaaccccaTcaacgccTccggcgT ggacgccaaggccaTccTgTccgcccggcTgTccaagTcccggc ggcTggagaaccTgaTcgcccagcTgcccggcgagaagaagaac ggccTgTTcggcaaccTgaTcgcccTgTcccTgggccTgaccc ccaacTTcaagTccaacTTcgaccTggccgaggacgccaagcTg cagcTgTccaaggacacctacgacgacgaccTggacaaccTgcT ggcccagaTcggcgaccagTacgccgaccTgTTccTggccgcca agaaccTgTccgacgccaTccTgcTgTccgacaTccTgcgggT gaacaccgagaTcaccaaggcccccTgTccgccTccaTgaTcaa gcggTacgacgagcaccaccaggaccTgacccTgcTgaaggccc TggTgcggcagcagcTgcccgagaagTacaaggagaTcTTcTT cgaccagTccaagaacggcTacgccggcTacaTcgacggcggcgc cTcccaggaggagTTcTacaagTTcaTcaagcccaTccTggaga agaTggacggcaccgaggagcTgcTggTgaagcTgaaccgggga ggaccTgcTgcggaagcagcggaccTTcgacaacggcTccaTcc

[1419]

[1420]

SEQ ID NO	说明	序列
		cccaccagaTccaccTgggcgagcTgcacgccaTccTgcggcgg caggaggacTTcTaccccTTccTgaaggacaaccgggagaagaT cgagaagaTccTgaccTTccggaTccccTacTacgTgggccccc Tggcccggggcaac Tcccgg TTcgccTggaTgacccggaagTcc gaggagaccaTcaccccc TggaacTTcgaggaggTggTggacaa gggcgccTccgcccagTccTTcaTcgagcggaTgaccaacTTcg acaagaaccTgcccaacgagaaggTgcTgcccaagcacTcccTgc TgTacgagTacTTcaccgTgTacaacgagcTgaccaaggTgaa gTacgTgaccgagggcaTgcggaagcccgccTTccTgTccggc gagcagaagaaggccaTcgTggaccTgcTgTTcaagaccaaccg gaaggTgaccgTgaagcagcTgaaggaggacTacTTcaagaaga TcgagTgcTTcgacTccgTggagaTcTccggcgTggaggaccg gTTcaacgccTcccTgggcaccTaccacgaccTgcTgaagaTca Tcaaggacaaggac TTccTggacaacgaggagaacgaggacaTcc TggaggacaTcgTgcTgacccTgacccTgTTcgaggaccggga gaTgaTcgaggagcggcTgaagaccTacgcccaccTgTTcgacg acaaggTgaTgaagcagcTgaagcggcggcggTacaccggcTgg ggccggcTgTcccggaagcTgaTcaacggcaTccgggacaagca gTccggcaagaccaTccTggacTTccTgaagTccgacggcTTcg ccaaccggaacTTcaTgcagcTgaTccacgacgacTcccTgacc TTcaaggaggacaTccagaaggcccaggTgTccggccagggcga cTcccTgcacgagcacaTcgccaaccTggccggcTcccccgccaT caagaagggcaTccTgcagaccgTgaaggTggTggacgagcTg gTgaaggTgaTgggccggcacaagcccgagaacaTcgTgaTcga gaTggcccgggagaaccagaccacccagaagggccagaagaacTc ccgggagcggaTgaagcggaTcgaggagggcaTcaaggagcTgg gcTcccagaTccTgaaggagcaccccgTggagaacacccagcTgc agaacgagaagcTgTaccTgTacTaccTgcagaacggccgggac aTgTacgTggaccaggagcTggacaTcaaccggcTgTccgacTa cgacgTggaccacaTcgTgccccagTccTTccTgaaggacgacT ccaTcgacaacaaggTgcTgacccggTccgacaagaaccggggca agTccgacaacgTgcccTccgaggaggTggTgaagaagaTgaag aacTacTggcggcagcTgcTgaacgccaagcTgaTcacccagcg gaagTTcgacaaccTgaccaaggccgagcggggcggccTgTccg agcTggacaaggccggcTTcaTcaagcggcagcTggTggagacc cggcagaTcaccaagcacgTggcccagaTccTggacTcccggaT gaacaccaagTacgacgagaacgacaagcTgaTccgggaggTgaa ggTgaTcacccTgaagTccaagcTggTgTccgacTTccggaag gacTTccagTTcTacaaggTgcgggagaTcaacaacTaccacca cgcccacgacgccTaccTgaacgccgTggTgggcaccgcccTga TcaagaagTaccccaagcTggagTccgagTTcgTgTacggcgac TacaaggTgTacgacgTgcggaagaTgaTcgccaagTccgagca ggagaTcggcaaggccaccgccaagTacTTcTTcTacTccaaca TcaTgaacTTcTTcaagaccgagaTcacccTggccaacggcgag aTccggaagcggccccTgaTcgagaccaacggcgagaccggcgag aTcgTgTgggacaagggccgggacTTcgccaccgTgcggaagg TgcTgTccaTgccccaggTgaacaTcgTgaagaagaccgaggT gcagaccggcggcTTcTccaaggagTccaTccTgcccaagcgga

[1421]

SEQ ID NO	说明	序列
		acTccgacaagcTgaTcgcccggaagaaggacTgggaccccaaga agTacggcggcTTcgacTcccccaccgTggccTacTccgTgcTg gTggTggccaaggTggagaagggcaagTccaagaagcTgaagT ccgTgaaggagcTgcTgggcaTcaccaTcaTggagcggTccTcc TTcgagaagaaccccaTcgacTTccTggaggccaagggcTacaa ggaggTgaagaaggaccTgaTcaTcaagcTgcccaagTacTccc TgTTcgagcTggagaacggccggaagcggaTgcTggccTccgc cggcgagcTgcagaagggcaacgagcTggcccTgcccTccaagT acgTgaacTTccTgTaccTggccTcccacTacgagaagcTgaag ggcTcccccgaggacaacgagcagaagcagcTgTTcgTggagca gcacaagcacTaccTggacgagaTcaTcgagcagaTcTccgagT TcTccaagcgggTgaTccTggccgacgccaaccTggacaaggTg cTgTccgccTacaacaagcaccgggacaagcccaTccgggagcag gccgagaacaTcaTccaccTgTTcacccTgaccaaccTgggcgc ccccgccgccTTcaagTacTTcgacaccaccaTcgaccggaagcg gTacaccTccaccaaggaggTgcTggacgccacccTgaTccacca gTccaTcaccggccTgTacgagacccggaTcgaccTgTcccagc TgggcggcgacggcggcggcTcccccaagaagaagcggaaggTg Tga
308	Nme2 BC22n 碱基编辑器的开放阅读框	AUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCC GCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAG AAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGAG GCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGGCACCUGA UGGACCCCCACAUCUUCACCUCCAACUUCA ACAACGGCAUCGGCCGGCACAAGACCUACC UGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUGGACAACG GCACCUCCGUGAAGAUGGACCAGCACCGGG GCUUCCUGCACAACCAGGCCAAGAACCUGC UGUGCGGCUUCUACGGCCGGCACGCCGAGC UGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCCUCCCUGC AGCUGGACCCCGCCCAGAUCUACCGGGUGA CCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCCUGCUUCU CCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUGCGGGCCU UCCUGCAGGAGAACACCCACGUGCGGCUGC GGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUACGACUACG ACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUGCAGAUGC UGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUGUCCAUCA UGACCUACGACGAGUUCAAGCACUGCUGGG ACACCUUCGUGGACCACCAGGGCUGCCCCU UCCAGCCCUGGGACGGCCUGGACGAGCACU CCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUGCGGGCCA UCCUGCAGAACCAGGGCAACUCCGGCUCCG AGACCCCCGGCACCUCCGAGUCCGCCACCC CCGAGUCCGCAGCGUUCAAACCAAAUcccauc aacuacauccugggccuggccaucggcaucgccuccgugggcugg gccaugguggagaucgacgaggaggagaaccccauccggcugauc gaccugggcgugcggguguucgagcgggccgaggugcccaagac

[1422]

SEQ ID NO	说明	序列
		cggcgacucccuggccauggcccggcggcuggcccgguccgugcg gcggcugacccggcggcgggcccaccggcugcugcgggcccggcg gcugcugaagcgggagggcgugcugcaggccgccgacuucgacga gaacggccugaucaaguccccugcccaacacccccuggcagcugcg ggccgccgcccuggaccggaagcugacccccccuggaggugguccgc cgugcugcugcaccugaucaagcaccggggcuaccugucccagcg gaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagcugggcgcccugcu gaagggcguggccaacaacgcccacgcccugcagaccggcgacuu ccggacccccgccgagcuggcccugaacaaguucgagaaggaguc cggccacauccggaaccagcggggcgacuacucccacaccuucucc cggaaggaccugcaggccgagcugauccugcuguucgagaagcag aaggaguucggcaacccccacguguccggcggccugaaggagggc aucgagacccugcugaugacccagcggcccgcccuguccggcgac gccgugcagaagaugcugggccacugcaccuucgagcccgccgag cccaaggccgccaagaacaccuacaccgccgagcgguucaucuggc ugaccaagcugaacaaccugcggauccuggagcagggcuccgagc ggccccugaccgacaccgagcgggccacccugauggacgagcccu accggaaguccaagcugaccuacgcccaggcccggaagcugcugg gccuggaggacaccgccuucuucaagggccugcgguacggcaagg acaacgccgaggccuccacccugauggagaugaaggccuaccacgc caucucccgggcccuggagaaggagggccugaaggacaagaaguc cccccugaaccuguccuccgagcugcaggacgagaucggcaccgc cuucucccuguucaagaccgacgaggacaucaccggccggcugaa ggaccgggugcagcccgagauccuggaggcccugcugaagcacau cuccuucgacaaguucgugcagaucucccugaaggcccugcggcg gaucgugccccugauggagcagggcaagcgguacgacgaggccug cgccgagaucuacggcgaccacuacggcaagaagaacaccgaggag aagaucuaccugccccccaucccccgccgacgagauccggaacccg uggugcugcgggcccugucccaggcccggaaggugaucaacggcg uggugcggcgguacggcucccccgcccggauccacaucgagaccg cccgggaggugggcaaguccuucaaggaccggaaggagaucgaga agcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccgcca aguuccgggaguacuucccccaacuucguggggcgagcccaagucca aggacauccugaagcugcggcuguacgagcagcagcacggcaagu gccuguacuccggcaaggagaucaaccuggugcggcugaacgaga agggcuacguggagaucgaccacgcccugcccuucucccggaccu gggacgacuccuucaacaacaaggugcuggugcugggcuccgaga accagaacaagggcaaccagaccccuacgaguacuucaacggcaa ggacaacucccgggaguggcaggaguucaaggcccggguggagac cucccgguucccccgguccaagaagcagcggauccugcugcagaa guucgacgaggacggcuucaaggagugcaaccugaacgacacccg guacgugaaccgcuuccugugccaguucguggccgaccacauccu gcugaccggcaagggcaagcggcggguguucgccuccaacggcca gaucaccaaccugcugcggggcuucuggggccugcggaaggugc gggccgagaacgaccggcaccacgcccuggacgccgugguggugg ccugcuccaccguggccaugcagcagaagaucacccgguucgugc gguacaaggagaugaacgccuucgacggcaagaccaucgacaagg agaccggcaaggugcugcaccagaagacccacuucccccagcccug

[1423]

SEQ ID NO	说明	序列
		ggaguucuucgcccaggaggugaugauccggguguucggcaagc ccgacggcaagcccgaguucgaggaggccgacaccccgagaagc ugcggacccugcuggccgagaagcuguccucccggcccgaggccg ugcacgaguacgugacccccuguucgugucccgggccccaacc ggaagauguccggcgcccacaaggacacccugcgguccgccaagc gguucgugaagcacaacgagaagaucuccgugaagcggguguggc ugaccgagaucaagcuggccgaccuggagaacauggugaacuaca agaacggccgggagaucgagcuguacgaggcccugaaggcccggc uggaggccuacggcggcaacgccaagcaggccuucgaccccaagg acaaccccuucuacaagaagggcggccagcuggugaaggccgugc ggguggagaagacccaggaguccggcgugcugcugaacaagaaga acgccuacaccaucgccgacaacggcgacauggugcggguggacg uguucugcaagguggacaagaagggcaagaaccaguacuucaucg ugcccaucuacgccuggcagguggccgagaacauccugcccgaca ucgacugcaagggcuaccggaucgacgacuccuacaccuucugcu ucucccugcacaaguacgaccugaucgccuuccagaaggacgaga aguccaagguggaguucgccuacuacaucaacugcgacuccucca acggccgguucuaccuggccuggcacgacaagggcuccaaggagc agcaguuccggaucuccacccagaaccuggugcugauccagaagu accaggugaacgagcugggcaaggagauccggcccugccggcuga agaagcggccccccgugcgguag
309	尿嘧啶糖苷酶抑制剂(UGI)的开放阅读框	AUGACCAACCUGUCCGACAUCAUCGAGAAG GAGACCGGCAAGCAGCUGGUGAUCCAGGAG UCCAUCCUGAUGCUGCCCGAGGAGGUGGAG GAGGUGAUCGGCAACAAGCCCGAGUCCGAC AUCCUGGUGCACACCGCCUACGACGAGUCC ACCGACGAGAACGUGAUGCUGCUGACCUCC GACGCCCCCGAGUACAAGCCCUGGGCCCUG GUGAUCCAGGACUCCAACGGCGAGAACAAG AUCAAGAUGCUGUCCGGCGGCUCCAAGCGG ACCGCCGACGGCUCCGAGUUCGAGUCCCCC AAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGUGAUAG
310	编码 Nme2 碱基编辑器的开放阅读框	AUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCC GCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAG AAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGAG GCCUCCCCCCGCCUCCGGCCCCCGGCACCUGA UGGACCCCCACAUCUUCACCUCCAACUUCA ACAACGGCAUCGGCCGGCACAAGACCUACC UGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUGGACAACG GCACCUCCGUGAAGAUGGACCAGCACCGGG GCUUCCUGCACAACCAGGCCAAGAACCUGC UGUGCGGCUUCUACGGCCGGCACGCCGAGC UGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCCUCCCUGC AGCUGGACCCCGCCCAGAUCUACCGGGUGA CCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCCUGCUUCU CCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUGCGGGCCU UCCUGCAGGAGAACACCCACGUGCGGCUGC

[1424]

SEQ ID NO	说明	序列
		GGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUACGACUACG ACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUGCAGAUGC UGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUGUCCAUCA UGACCUACGACGAGUUCAAGCACUGCUGGG ACACCUUCGUGGACCACCAGGGCUGCCCCU UCCAGCCCUGGGACGGCCUGGACGAGCACU CCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUGCGGGCCA UCCUGCAGAACCAGGGCAACggcaccaaggacucc accaaggacaucccccgagacccccuccaaggacGCAGCGUU CAAACCAAAUcccaucaacuacauccugggccuggccauc ggcaucgccuccguggcugggccaugguggagaucgacgagga ggagaaccccauccggcugaucgaccugggcgugcggguguucga gcgggccgaggugcccaagaccggcgacucccuggccauggcccg gcggcuggcccgguccgugcggcggcugacccggcggcgggccca ccggcugcugcgggcccggcggcugcugaagcgggagggcgugc ugcaggccgccgacuucgacgagaacggccugaucaaguccugc ccaacacccccuggcagcugcgggccgccgcccuggaccggaagc ugacccccuggagugguccgccgugcugcugcaccugaucaagc accggggcuaccugucccagcggaagaacgagggcgagaccgccg acaaggagcugggcgcccugcugaagggcguggccaacaacgccc acgcccugcagaccggcgacuuccggacccccgccgagcuggccc ugaacaaguucgagaaggaguccggccacauccggaaccagcggg gcgacuacucccacaccuucucccggaaggaccugcaggccgagc ugauccugcuguucgagaagcagaaggaguucggcaacccccacg uguccggcggccugaaggagggcaucgagacccugcugaugaccc agcggcccgcccuguccggcgacgccgugcagaagaugcugggcc acugcaccuucgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacaccua caccgccgagcgguucaucuggcugaccaagcugaacaaccugcg gauccuggagcagggcuccgagcggccccugaccgacaccgagcg ggccacccugauggacgagcccuaccggaaguccaagcugaccua cgcccaggcccggaagcugcugggccuggaggacaccgccuucuu caagggccugcgguacggcaaggacaacgccgaggccucccacccu gauggagaugaaggccuaccacgccaucucccgggcccuggagaa ggagggccugaaggacaagaaguccccccugaaccuguccuccga gcugcaggacgagaucggcaccgccuucucccuguucaagaccga cgaggacaucaccggccggcugaaggaccgggugcagcccgagau ccuggaggcccugcugaagcacaucuccuucgacaaguucgugca gaucucccugaaggcccugcggcggaucgugccccugauggagca gggcaagcgguacgacgaggccugcgccgagaucuacggcgacca cuacggcaagaagaacaccgaggagaagaucuaccugccccccauc cccgccgacgagauccggaaccccguggugcugcgggcccugucc caggcccggaaggugaucaacggcguggugcggcgguacggcucc cccgcccggauccacaucgagaccgcccgggaggugggcaagucc uucaaggaccggaaggagaucgagaagcggcaggaggagaaccgg aaggaccgggagaaggccgccgccaaguuccgggaguacuucccc aacuucguggggcgagcccaaguccaaggacauccugaagcugcgg cuguacgagcagcagcacggcaagugccuguacuccggcaaggag aucaaccuggugcggcugaacgagaagggcuacguggagaucgac

[1425]

SEQ ID NO	说明	序列
		cacgcccugcccuucucccggaccugggacgacuccuucaacaaca aggugcuggugcugggcuccgagaaccagaacaagggcaaccaga ccccccuacgaguacuucaacggcaaggacaacucccgggaguggc aggaguucaaggcccggguggagaccucccgguuccccccggucca agaagcagcggauccugcugcagaaguucgacgaggacggcuuca aggagugcaaccugaacgacacccgguacgugaaccgcuuccugu gccaguucguggccgaccacauccugcugaccggcaagggcaagc ggcggguguucgccuccaacggccagaucaccaaccugcugcggg gcuucuggggccugcggaaggugcgggccgagaacgaccggcacc acgcccuggacgccgugguggugguggccugcuccaccguggccaugc agcagaagaucacccgguucgugcgguacaaggagaugaacgccu ucgacggcaagaccaucgacaaggagaccggcaaggugcugcacc agaagacccacuucccccagcccugggaguucuucgcccaggagg ugaugauccggguguucggcaagcccgacggcaagcccgaguucg aggaggccgacacccccgagaagcugcggacccugcuggccgaga agcuguccucccggcccgaggccgugcacgaguacgugacccccc uguucguguccccgggccccccaaccggaagauguccggcgcccaca aggacacccugcgguccgccaagcgguucgugaagcacaacgaga agaucuccgugaagcggguguggcugaccgagaucaagcuggccg accuggagaacauggugaacuacaagaacggccgggagaucgagc uguacgaggcccugaaggcccggcuggaggccuacggcggcaacg ccaagcaggccuucgaccccaaggacaacccccuucuacaagaaggg cggccagcuggugaaggccgugcggguggagaagacccaggaguc cggcgugcugcugaacaagaagaacgccuacaccaucgccgacaac ggcgacauggugcggguggacguguucugcaagguggacaagaa gggcaagaaccaguacuucaucgugcccaucuacgccuggcaggu ggccgagaacauccugcccgacaucgacugcaagggcuaccggau cgacgacuccuacaccuucugcuucucccugcacaaguacgaccu gaucgccuuccagaaggacgagaaguccaagguggaguucgccua cuacaucaacugcgacuccuccaacggccgguucuaccuggccug gcacgacaagggcuccaaggagcagcaguuccggaucuccaccca gaaccuggugcugauccagaaguaccaggugaacgagcugggcaa ggagauccggcccugccggcugaagaagcggccccccgugcggua g
311	Nme2 碱基编辑器的氨基酸序列	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKK KKGGSGGGEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGI GRHKTYLCYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHN QAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIY RVTWFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRL RIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMT YDEFKHCWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQA LSGRLRAILQNQGNGTKDSTKDIPETPSKDAAF KPNPINYILGLAIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLI DLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRL TRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLI KSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLI KHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNA HALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGD

[1426]

SEQ ID NO	说明	序列
		YSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGL KEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPA EPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERP LTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLED TAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRAL EKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDE DITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKA LRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTE EKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVR RYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEEN RKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRL YEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHAL PFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEY FNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILL QKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHIL LTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAE NDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKE MNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQ EVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKL SSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTL RSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMV NYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPK DNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKN AYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPI YAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKY DLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAW HDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIR PCRLKKRPPVR*
312	示例性经修饰的 Nme 向导 sgRNA	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNN mNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUm GmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGm GmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGC mCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGG CAUCG*mU*mU
313	示例性经修饰的 Nme 向导 sgRNA	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNN mNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUm GmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAG mGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUG CmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUm CmUGGCAUCG*mU*mU
314	示例性经修饰的 Nme 向导 sgRNA	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNN mNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUm GmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGm GmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGC mCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmC mUGGCAUCG*mU*mU

[1427] 表19.示例性SpyCas9 sgRNA保守部分(SEQ ID NO:226)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
G	U	U	U	U	A	G	A	G	C	U	A	G	A	A	A	U	A	G	C	A	A	G	U	U	A	A	A	A	U
LS1-LS6						B1-B2		US1-US12												B2-B6				LS7-LS12					

[1428]

31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
A	A	G	G	C	U	A	G	U	C	C	G	U	U	A	U	C	A	A	C	U	U	G	A	A	A	A	A	G	U
Nexus																		H1-1 至 H1-12											

61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76
G	G	C	A	C	C	G	A	G	U	C	G	G	U	G	C
N	H2-1 至 H2-15														

[1429] 表20.示例性NmeCas9 sgRNA保守部分(SEQ ID NO:400(“示例性NmeCas9 sgRNA-1”)

[1430]

1-24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN	G	U	U	G	U	A	G	C	U	C	C	C	U	U	U	C	U	C	A	U	U	U	C	G
	下茎												上茎											
向导区	**重复序列/抗重复序列区**																							

49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77
G	A	A	A	C	G	A	A	A	U	G	A	G	A	A	C	C	G	U	U	G	C	U	A	C	A	A	U	A
环				上茎													下茎											
重复序列/抗重复序列区																												

78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108
A	G	G	C	C	G	U	C	U	G	A	A	A	A	G	A	U	G	U	G	C	C	G	C	A	A	C	G	C	U	C
茎									环				茎(96：未配对)											下茎				凸起		
发夹 1																								**发夹 2**						

[1431]

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

135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145
G	G	C	A	U	C	G	U	U	U	A
上茎				凸起	下茎					

[1432]

发夹 2	**尾**

[1433] 表21.其他示例性Nme向导RNA

[1434]

向导 ID	靶标	向导序列	示例性向导 RNA 全序列	示例性向导 RNA 经修饰序列	基因组坐标 (hg38)
G013006	TRAC	CUCUCAGCUGGUACACGGCA (SEQ ID NO: 315)	CUCUCAGCUGGUACACGGCAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU (SEQ ID NO: 316)	mC*mU*mC*UCAGCUGGUACACGGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU (SEQ ID NO: 317)	chr14:22547524-22547544
G013675	CIITA	CCCCCGGACGGUUCAAGCAAG (SEQ ID NO: 318)	CCCCCGGACGGUUCAAGCAAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU (SEQ ID NO: 319)	mC*mC*mC*CCGGACGGUUCAAGCAAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU (SEQ ID NO: 320)	chr16:10906853-10906873
G014832	TRBC1	GGCUCUCGGA	GGCUCUCGGAGAAUG	mG*mG*mC*UCUCGGAGAA	chr7:14279199

[1435]

		GAAUGACGAG (SEQ ID NO: 321)	ACGAGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU (SEQ ID NO: 322)	UGACGAGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU (SEQ ID NO: 323)	6-142792016
G016239	TRBC1	GGCCUCGGCGCUGACGAUCU (SEQ ID NO: 324)	GGCCUCGGCGCUGACGAUCUGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU (SEQ ID NO: 325)	mG*mG*mC*CUCGGCGCUGACGAUCUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU (SEQ ID NO: 326)	chr7:142792047-142792067
G018995	HLA-A	ACAGCGACGCCGCGAGCCAG (SEQ ID NO: 327)	ACAGCGACGCCGCGAGCCAGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU (SEQ ID NO: 328)	mA*mC*mA*GCGACGCCGCGAGCCAGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*m	chr6:29942864-29942884

[1436]

				U*mU (SEQ ID NO: 329)	
G021469	TRAC	AUAUCCAGAACCCCUGACCCUGCCG (SEQ ID NO: 330)	AUAUCCAGAACCCUGACCCUGCCGGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 331)	mA*mU*mA*mUmCCAmGmAAmCCmCUGACmCCUGmCCGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU (SEQ ID NO: 332)	chr14:22547505-22547529
G023520	TRAC	UUCAAAACCUGUCAGUGAUU (SEQ ID NO: 333)	UUCAAAACCUGUCAGUGAUUGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGGUGCU (SEQ ID NO: 334)	mU*mU*mC*AAAACCUGUCAGUGAUUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGGmUmGmC*mU (SEQ ID NO: 335)	chr14:22550571-22550591
G023521	CIITA	CGCCCAGGUCCUCACGUCUG (SEQ ID NO: 336)	CGCCCAGGUCCUCACGUCUGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGGUGCU (SEQ ID NO: 337)	mC*mG*mC*CCAGGUCCUCACGUCUGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGGmUmGmC*mU (SEQ ID NO: 338)	chr16:10907539-10907559
G023523	HLA-A	GCUGCAGCGC	GCUGCAGCGCACGGG	mG*mC*mU*GCAGCGCACGG	chr6:29943529

[1437]

		ACGGGUACCA (SEQ ID NO: 339)	UACCAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGGUGCU (SEQ ID NO: 340)	GUACCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGGmUmGmC*mU (SEQ ID NO: 341)	-29943549
G023524	TRBC2	CCACACCCAAAAGGCCACAC (SEQ ID NO: 342)	CCACACCCAAAAGGCCACACGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGGUGCU (SEQ ID NO: 343)	mC*mC*mA*CACCCAAAAGGCCACACGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCACGAAAGGGCACCGAGUCGGmUmGmC*mU (SEQ ID NO: 344)	chr7:142801104-142801124
G026584	CIITA	UCAAAGUACCCUACAGGAGGACCA (SEQ ID NO: 345)	UCAAAGUACCCUACAGGAGGACCAGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 346)	mU*mC*mA*mAmAGUmAmCCmCUmACAGGmAGGAmCCAmGmUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU (SEQ ID NO: 347)	chr16:10907504-10907528
G027891	TRAC	UUCAAAACCUGUCAGUGAUU (SEQ ID NO:	UUCAAAACCUGUCAGUGAUUGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU	mU*mU*mC*AAAACCUGUCAGUGAUUGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmG	chr14:22550571-22550591

[1438]

		348)	UAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCACGAAA GGGCACCGAGUCGGU GCU (SEQ ID NO: 349)	mCAAGUUAAAAUAAGGCUA GUCCGUUAUCACGAAAGGG CACCGAGUCGGmU*mG*mC* mU (SEQ ID NO: 350)	
G027904	TRBC2	CCACACCCAA AAGGCCACAC (SEQ ID NO: 351)	CCACACCCAAAAGGC CACACGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCACGAAA GGGCACCGAGUCGGU GCU (SEQ ID NO: 352)	mC*mC*mA*CACCCAAAAGG CCACACGUUUUAGAmGmCm UmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCACGAAAGGGC ACCGAGUCGGmU*mG*mC* mU (SEQ ID NO: 353)	chr7:14280110 4-142801124
G028535	CIITA	CGCCCAGGUC CUCACGUCUG (SEQ ID NO: 354)	CGCCCAGGUCCUCAC GUCUGGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCACGAAA GGGCACCGAGUCGGU GCU (SEQ ID NO: 355)	mC*mG*mC*CCAGGUCCUCA CGUCUGGUUUUAGAmGmCm UmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCACGAAAGGGC ACCGAGUCGGmU*mG*mC* mU (SEQ ID NO: 356)	chr16:1090753 9-10907559
G028536	HLA-A	GCUGCAGCGC ACGGGUACCA (SEQ ID NO: 357)	GCUGCAGCGCACGGG UACCAGUUUUAGAGC UAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCACGAAA GGGCACCGAGUCGGU GCU (SEQ ID NO: 358)	mG*mC*mU*GCAGCGCACGG GUACCAGUUUUAGAmGmCm UmAmGmAmAmAmUmAmGm CAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCACGAAAGGGC ACCGAGUCGGmU*mG*mC* mU (SEQ ID NO: 359)	chr6:29943529 -29943549

[1439]

G028907	HLA-A	UCCUGCUCUA UCCACGGCGC CCGC (SEQ ID NO: 360)	UCCUGCUCUAUCCAC GGCGCCCGCGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 361)	mU*mC*mC*mUmGCUmCmU AmUCmCACGGmCGCCmCGC mGUUGmUmAmGmCUCCCm UmGmAmAmAmCmCGUUmG mCUAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAU CG*mU*mU (SEQ ID NO: 362)	chr6:29942895 -29942919
G028986	TRBC1	GUGUCCUACC AGCAAGGGG UCCUG (SEQ ID NO: 363)	GUGUCCUACCAGCAA GGGGUCCUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 364)	mG*mU*mG*mUmCCUmAmC CmAGmCAAGGmGGUCmCUG mGUUGmUmAmGmCUCCCm UmGmAmAmAmCmCGUUmG mCUAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAU CG*mU*mU (SEQ ID NO: 365)	chr7:14279269 0-142792714
G028918	HLA-A	GCUCUAUCCA CGGCGCCCGC GGCU (SEQ ID NO: 366)	GCUCUAUCCACGGCG CCCGCGGCUGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ	mG*mC*mU*mCmUAUmCmC AmCGmGCGCCmCGCGmGCU mGUUGmUmAmGmCUCCCm UmGmAmAmAmCmCGUUmG mCUAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGCUCU	chr6:29942891 -29942915

[1440]

			ID NO: 367)	mGmCCmUmUmCmUGGCAU CG*mU*mU (SEQ ID NO: 368)	
G034202	HLA-A	GCUCUAUCCA CGGCGCCCGC GGCU (SEQ ID NO: 366)	GCUCUAUCCACGGCG CCCGCGGCUGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 367)	mG*mC*mU*mCmUAUmCmC AmCGmGCGCCmCGCGmGCU mGUUGmUmAmGmCUCCCm UmGmAmAmAmCmCGUUmG mCUAmCAAUAAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAU CG*mU*mU (SEQ ID NO: 369)	chr6:29942891 -29942915
G028913	HLA-A	CACUCACCCG CCCAGGUCUG GGUC (SEQ ID NO: 370)	CACUCACCCGCCCAG GUCUGGGUCGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 371)	mC*mA*mC*mUmCACmCmC GmCCmCAGGUmCUGGmGUC mGUUGmUmAmGmCUCCCm UmGmAmAmAmCmCGUUmG mCUAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAU CG*mU*mU (SEQ ID NO: 372)	chr6:29942609 -29942633
G034617	HLA-A	CACUCACCCG CCCAGGUCUG GGUC (SEQ ID NO: 370)	CACUCACCCGCCCAG GUCUGGGUCGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC	mC*mA*mC*mUmCACmCmC GmCCmCAGGUmCUGGmGUC mGUUGmUmAmGmCUCCCm UmGmAmAmAmCmCGUUmG mCUAmCAAUAAGmGmCCm	chr6:29942609 -29942633

[1441]

			GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 371)	GmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAU CG*mU*mU (SEQ ID NO: 373)	
G028943	TRAC	AAAACCUGUC AGUGAUUGG GUUCC (SEQ ID NO: 374)	AAAACCUGUCAGUGA UUGGGUUCCGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 375)	mA*mA*mA*mAmCCUmGmU CmAGmUGAUUmGGGUmUC CmGUUGmUmAmGmCUCCC mUmGmAmAmAmCmCGUUm GmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmCmGmAmAmAmGmA mUGUGCmCGmCAAmCGCUC UmGmCCmUmUmCmUGGCA UCG*mU*mU (SEQ ID NO: 376)	chr14:2255057 4-22550598
G034982	TRAC	AAAACCUGUC AGUGAUUGG GUUCC (SEQ ID NO: 374)	AAAACCUGUCAGUGA UUGGGUUCCGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 375)	mA*mA*mA*mAmCCUmGmU CmAGmUGAUUmGGGUmUC CmGUUGmUmAmGmCUCCC mUmGmAmAmAmCmCGUUm GmCUAmCAAUAAGmGmCC mGmUmCmGmAmAmAmGmA mUGUGCmCGmCAAmCGCUC UmGmCCmUmUmCmUGGCA UCG*mU*mU (SEQ ID NO: 377)	chr14:2255057 4-22550598
G028939	TRAC	UUAGGUUCG	UUAGGUUCGUAUCUG	mU*mU*mA*mGmGUUmCmG	chr14:2255054

[1442]

		UAUCUGUAAAACCAA (SEQ ID NO: 378)	UAAAACCAAGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 379)	UmAUmCUGUAmAAACmCAAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU (SEQ ID NO: 380)	4-22550568
G034981	TRAC	UUAGGUUCGUAUCUGUAAAACCAA (SEQ ID NO: 378)	UUAGGUUCGUAUCUGUAAAACCAAGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 379)	mU*mU*mA*mGmGUUmCmGUmAUmCUGUAmAAACmCAAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU (SEQ ID NO: 381)	chr14:22550544-22550568
G028986	TRBC1	GUGUCCUACCAGCAAGGGGUCCUG (SEQ ID NO: 363)	GUGUCCUACCAGCAAGGGGUCCUGGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 364)	mG*mU*mG*mUmCCUmAmCCmAGmCAAGGmGGUCmCUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU (SEQ ID NO: 365)	chr7:142792690-142792714

[1443]

G034618	TRBC1	GUGUCCUACCAGCAAGGGGUCCUG (SEQ ID NO: 363)	GUGUCCUACCAGCAAGGGGUCCUGGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 364)	mG*mU*mG*mUmCCUmAmCCmAGmCAAGGmGGUCmCUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU (SEQ ID NO: 382)	chr7:142792690-142792714
G026584	CIITA	UCAAAGUACCCUACAGGAGGACCA (SEQ ID NO: 345)	UCAAAGUACCCUACAGGAGGACCAGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 346)	mU*mC*mA*mAmAGUmAmCCmCUmACAGGmAGGAmCCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU (SEQ ID NO: 347)	chr16:10907504-10907528
G034201	CIITA	UCAAAGUACCCUACAGGAGGACCA (SEQ ID NO: 345)	UCAAAGUACCCUACAGGAGGACCAGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC	mU*mC*mA*mAmAGUmAmCCmCUmACAGGmAGGAmCCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmG	chr16:10907504-10907528

[1444]

			GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 346)	mCUAmCAAUAAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAU CG*mU*mU (SEQ ID NO: 383)	
G029131	CIITA	AGCUGCCGUU CUGCCCAGUC CGGG (SEQ ID NO: 384)	AGCUGCCGUUCUGCC CAGUCCGGGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 385)	mA*mG*mC*mUmGCCmGmU UmCUmGCCCAmGUCCmGGG mGUUGmUmAmGmCUCCCm UmGmAmAmAmCmCGUUmG mCUAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAU CG*mU*mU (SEQ ID NO: 386)	chr16:1090664 3-10906667
G034619	CIITA	AGCUGCCGUU CUGCCCAGUC CGGG (SEQ ID NO: 384)	AGCUGCCGUUCUGCC CAGUCCGGGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 385)	mA*mG*mC*mUmGCCmGmU UmCUmGCCCAmGUCCmGGG mGUUGmUmAmGmCUCCCm UmGmAmAmAmCmCGUUmG mCUAmCAAUAAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAU CG*mU*mU (SEQ ID NO: 387)	chr16:1090664 3-10906667
G032794	HLA-B	UCUGGGAAA GGAGGGGAA	UCUGGGAAAGGAGG GGAAGAUGAGGUUG	mU*mC*mU*mGmGGAmAmA GmGAmGGGGAmAGAUmGA	chr6:31355222 -31355246

[1445]

		GAUGAG (SEQ ID NO: 388)	UAGCUCCCUGAAACC GUUGCUACAAUAAGG CCGUCGAAAGAUGUG CCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 389)	GmGUUGmUmAmGmCUCCC mUmGmAmAmAmCmCGUUm GmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmCmGmAmAmAmGmA mUGUGCmCGmCAAmCGCUC UmGmCCmUmUmCmUGGCA UCG*mU*mU (SEQ ID NO: 390)	
G034208	HLA-B	UCUGGGAAA GGAGGGGAA GAUGAG (SEQ ID NO: 388)	UCUGGGAAAGGAGG GGAAGAUGAGGUUG UAGCUCCCUGAAACC GUUGCUACAAUAAGG CCGUCGAAAGAUGUG CCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 389)	mU*mC*mU*mGmGGAmAmA GmGAmGGGGAmAGAUmGA GmGUUGmUmAmGmCUCCC mUmGmAmAmAmCmCGUUm GmCUAmCAAUAAGmGmCC mGmUmCmGmAmAmAmGmA mUGUGCmCGmCAAmCGCUC UmGmCCmUmUmCmUGGCA UCG*mU*mU (SEQ ID NO: 391)	chr6:31355222 -31355246
G032795	HLA-B	CUCUGGGAAA GGAGGGGAA GAUGA (SEQ ID NO: 392)	CUCUGGGAAAGGAGG GGAAGAUGAGUUGU AGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGC CGUCGAAAGAUGUGC CGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	mC*mU*mC*mUmGGGmAmA AmGGmAGGGGmAAGAmUG AmGUUGmUmAmGmCUCCC mUmGmAmAmAmCmCGUUm GmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmCmGmAmAmAmGmA mUGUGCmCGmCAAmCGCUC	chr6:31355221 -31355245

[1446]

			(SEQ ID NO: 393)	UmGmCCmUmUmCmUGGCA UCG*mU*mU (SEQ ID NO: 394)	
G034209	HLA-B	CUCUGGGAAA GGAGGGGAA GAUGA (SEQ ID NO: 392)	CUCUGGGAAAGGAGG GGAAGAUGAGUUGU AGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGC CGUCGAAAGAUGUGC CGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 393)	mC*mU*mC*mUmGGGmAmA AmGGmAGGGGmAAGAmUG AmGUUGmUmAmGmCUCCC mUmGmAmAmAmCmCGUUm GmCUAmCAAUAAGmGmCC mGmUmCmGmAmAmAmGmA mUGUGCmCGmCAAmCGCUC UmGmCCmUmUmCmUGGCA UCG*mU*mU (SEQ ID NO: 395)	chr6:31355221 -31355245
G032806	HLA-B	UCCCAGAGCC GUCUUCCCAG UCCA (SEQ ID NO: 396)	UCCCAGAGCCGUCUU CCCAGUCCAGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 397)	mU*mC*mC*mCmAGAmGmC CmGUmCUUCCmCAGUmCCA mGUUGmUmAmGmCUCCCm UmGmAmAmAmCmCGUUmG mCUAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAU CG*mU*mU (SEQ ID NO: 398)	chr6:31355205 -31355229
G034211	HLA-B	UCCCAGAGCC GUCUUCCCAG UCCA (SEQ ID	UCCCAGAGCCGUCUU CCCAGUCCAGUUGUA GCUCCCUGAAACCGU	mU*mC*mC*mCmAGAmGmC CmGUmCUUCCmCAGUmCCA mGUUGmUmAmGmCUCCCm	chr6:31355205 -31355229

[1447]

		NO: 396)	UGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCC GCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU (SEQ ID NO: 397)	UmGmAmAmAmCmCGUUmG mCUAmCAAUAAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAU CG*mU*mU (SEQ ID NO: 399)	

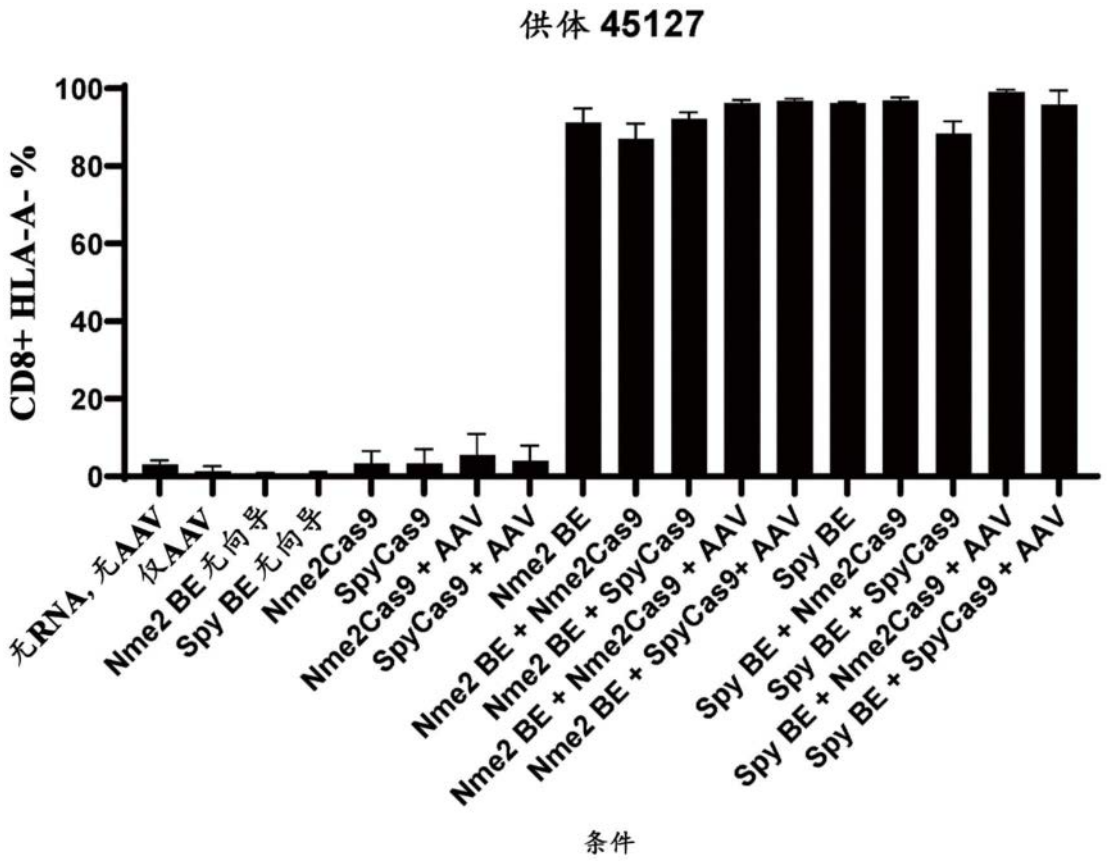

供体 45127
CD8+ HLA-A- %
100
80
60
40
20
0
无RNA，无AAV
仅AAV
Nme2 BE无向导
Spy BE无向导
Nme2Cas9
SpyCas9
Nme2Cas9 + AAV
SpyCas9 + AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Nme2 BE + SpyCas9
Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV
Nme2 BE + SpyCas9+ AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9
Spy BE + Nme2Cas9 + AAV
Spy BE + SpyCas9 + AAV
条件

图1A

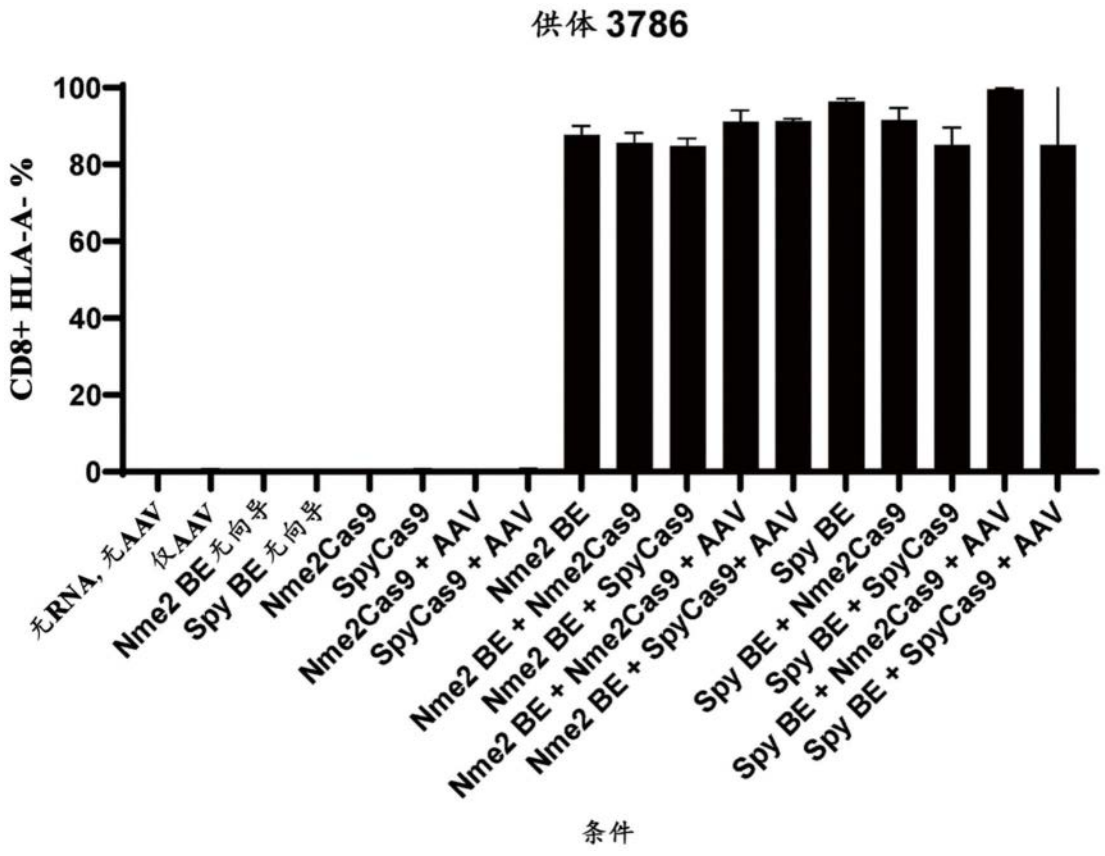

供体 3786
CD8+ HLA-A- %
100
80
60
40
20
0
无RNA, 无AAV
仅AAV
Nme2 BE无向导
Spy BE无向导
Nme2Cas9
SpyCas9
Nme2Cas9 + AAV
SpyCas9 + AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Nme2 BE + SpyCas9
Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV
Nme2 BE + SpyCas9+ AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9
Spy BE + Nme2Cas9 + AAV
Spy BE + SpyCas9 + AAV
条件

图1B

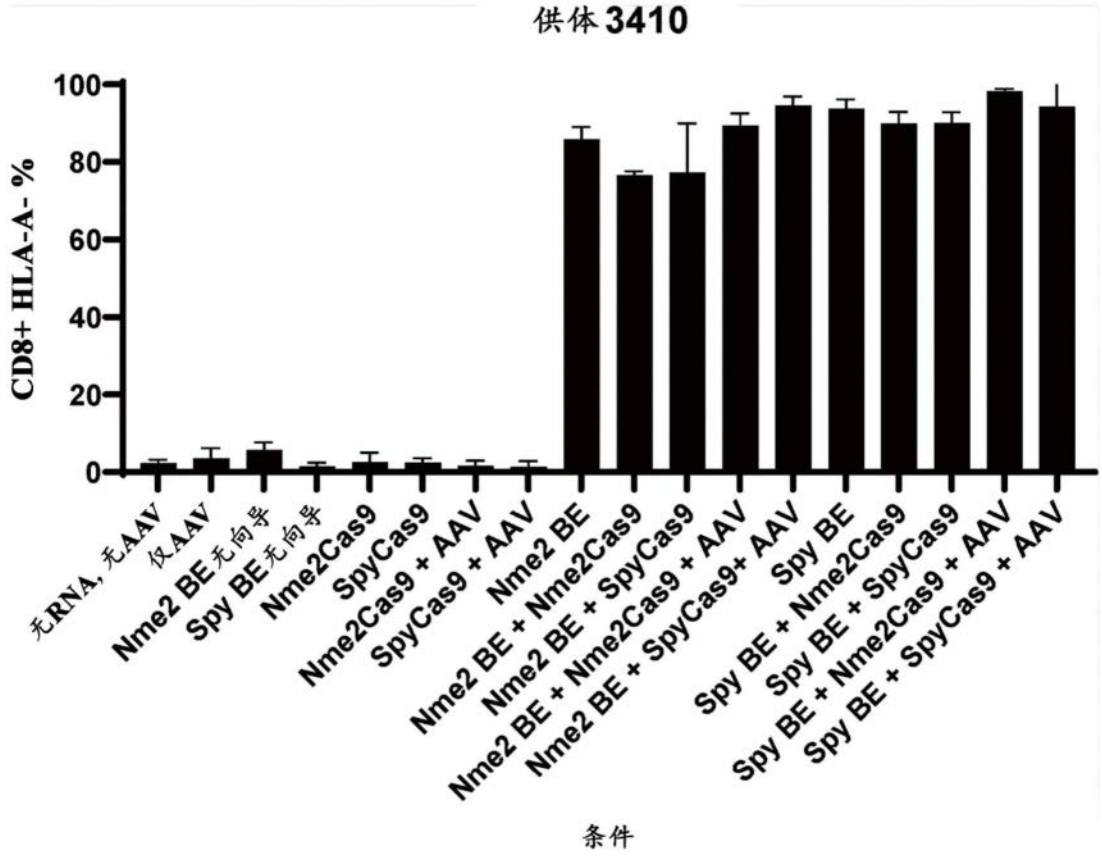

供体3410
CD8+ HLA-A- %
100
80
60
40
20
0
无RNA，无AAV
仅AAV
Nme2 BE无向导
Spy BE无向导
Nme2Cas9
SpyCas9
Nme2Cas9 + AAV
SpyCas9 + AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Nme2 BE + SpyCas9
Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV
Nme2 BE + SpyCas9+ AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9
Spy BE + Nme2Cas9 + AAV
Spy BE + SpyCas9 + AAV
条件

图1C

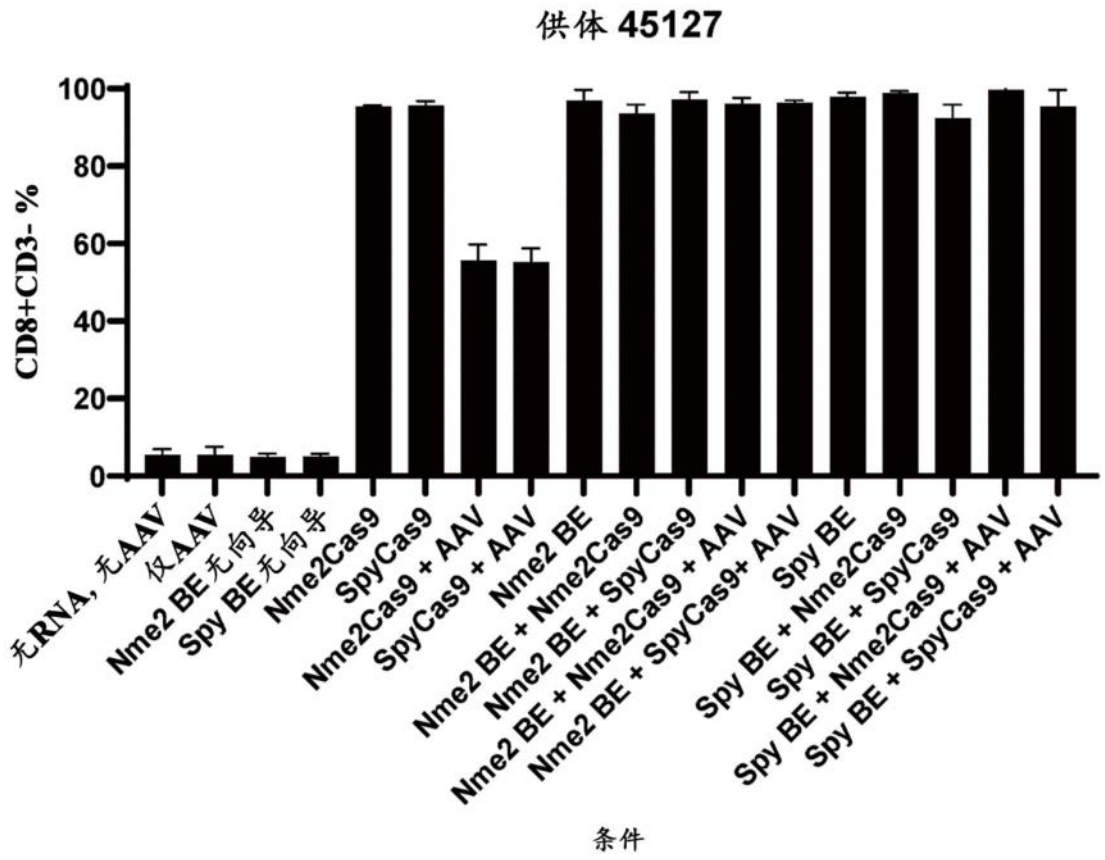

供体 45127
CD8+CD3- %
100
80
60
40
20
0
无RNA，无AAV
仅AAV
Nme2 BE无向导
Spy BE无向导
Nme2Cas9
SpyCas9
Nme2Cas9 + AAV
SpyCas9 + AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Nme2 BE + SpyCas9
Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV
Nme2 BE + SpyCas9+ AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9
Spy BE + Nme2Cas9 + AAV
Spy BE + SpyCas9 + AAV
条件

图2A

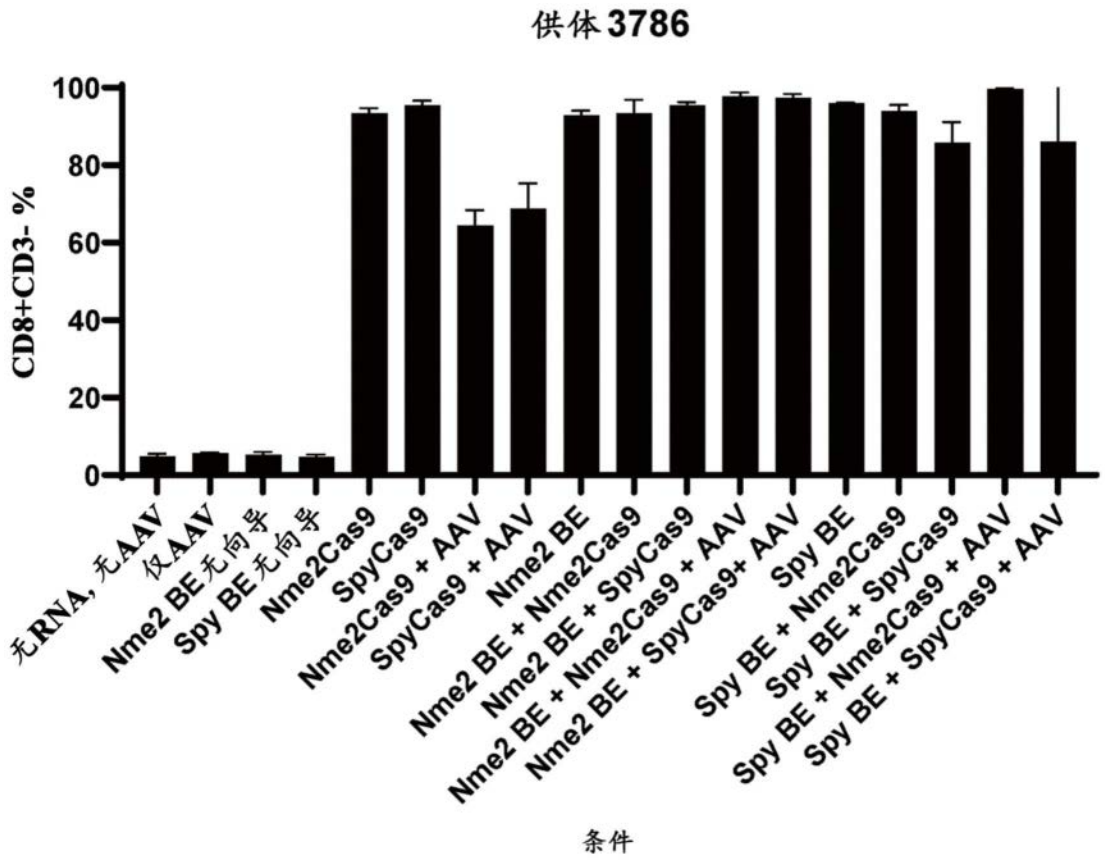

供体3786
CD8+CD3- %
100
80
60
40
20
0
无RNA，无AAV
仅AAV
Nme2 BE无向导
Spy BE无向导
Nme2Cas9
SpyCas9
Nme2Cas9 + AAV
SpyCas9 + AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Nme2 BE + SpyCas9
Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV
Nme2 BE + SpyCas9+ AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9
Spy BE + Nme2Cas9 + AAV
Spy BE + SpyCas9 + AAV
条件

图2B

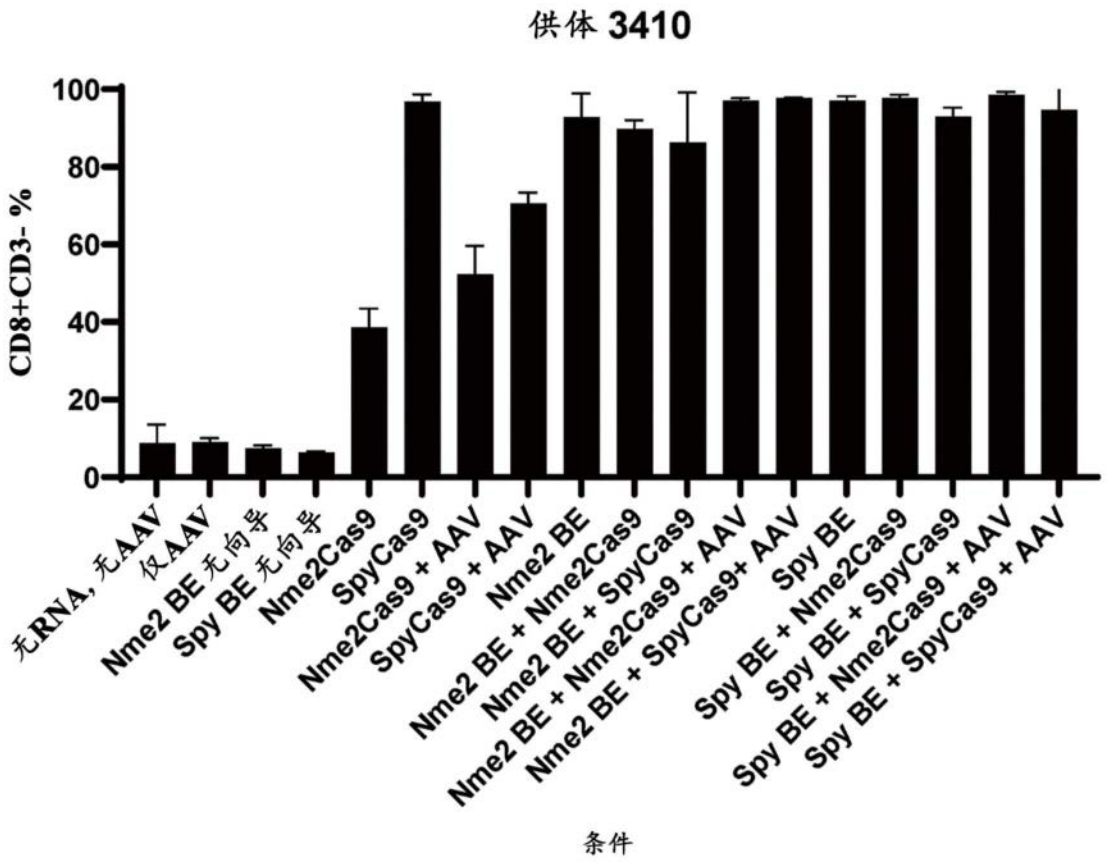

供体 3410
CD8+CD3- %
100
80
60
40
20
0
无RNA，无AAV
仅AAV
Nme2 BE 无向导
Spy BE 无向导
Nme2Cas9
SpyCas9
Nme2Cas9 + AAV
SpyCas9 + AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Nme2 BE + SpyCas9
Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV
Nme2 BE + SpyCas9+ AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9
Spy BE + Nme2Cas9 + AAV
Spy BE + SpyCas9 + AAV
条件

图2C

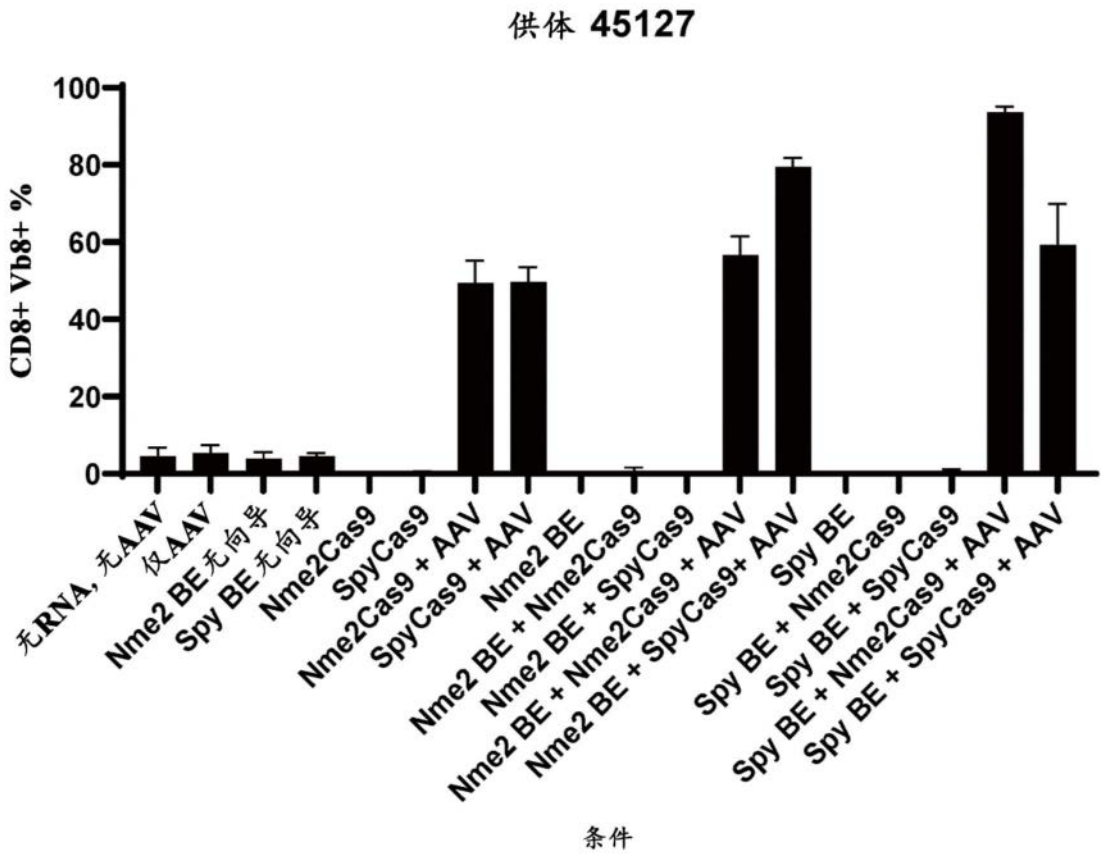

供体 45127
CD8+ Vb8+ %
100
80
60
40
20
0
无RNA, 无AAV
仅AAV
Nme2 BE无向导
Spy BE无向导
Nme2Cas9
SpyCas9
Nme2Cas9 + AAV
SpyCas9 + AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Nme2 BE + SpyCas9
Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV
Nme2 BE + SpyCas9+ AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9
Spy BE + Nme2Cas9 + AAV
Spy BE + SpyCas9 + AAV
条件

图3A

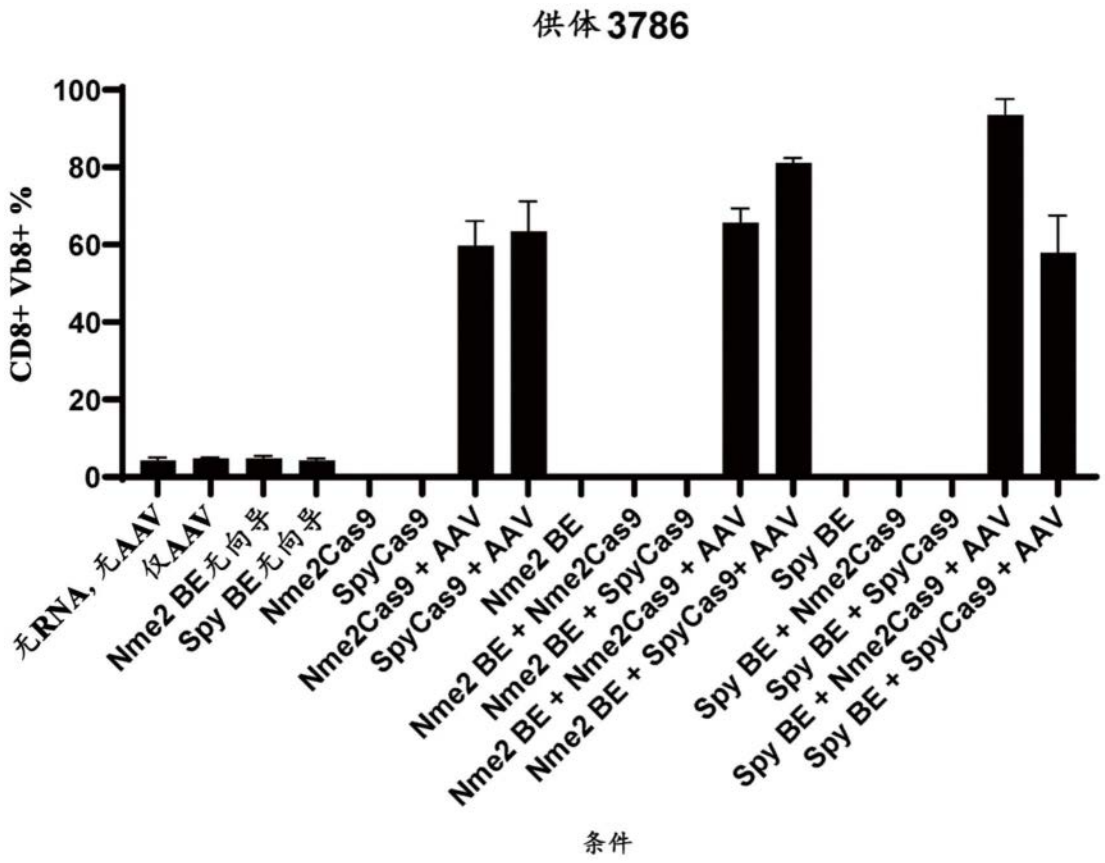

供体3786
CD8+ Vb8+ %
100
80
60
40
20
0
无RNA，无AAV
仅AAV
Nme2 BE无向导
Spy BE无向导
Nme2Cas9
SpyCas9
Nme2Cas9 + AAV
SpyCas9 + AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Nme2 BE + SpyCas9
Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV
Nme2 BE + SpyCas9+ AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9
Spy BE + Nme2Cas9 + AAV
Spy BE + SpyCas9 + AAV
条件

图3B

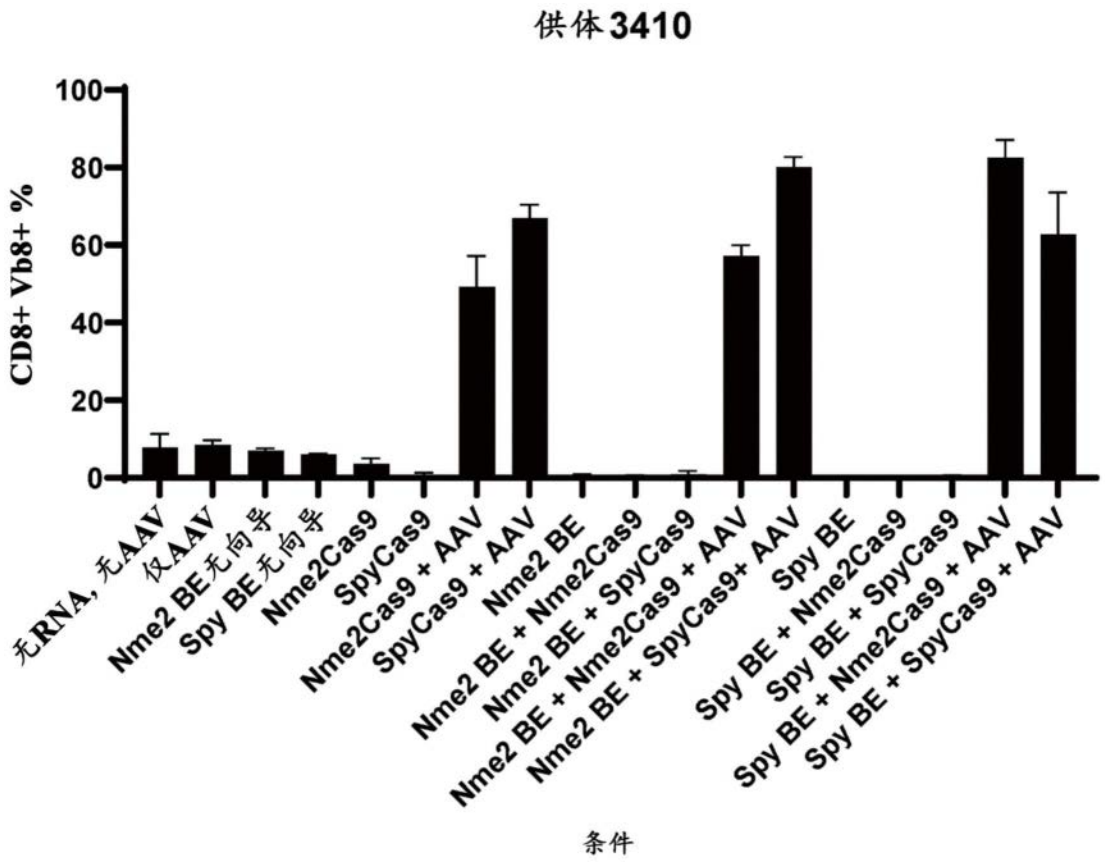

供体3410
CD8+ Vb8+ %
100
80
60
40
20
0
无RNA, 无AAV
仅AAV
Nme2 BE无向导
Spy BE无向导
Nme2Cas9
SpyCas9
Nme2Cas9 + AAV
SpyCas9 + AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Nme2 BE + SpyCas9
Nme2 BE + Nme2Cas9 + AAV
Nme2 BE + SpyCas9+ AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9
Spy BE + Nme2Cas9 + AAV
Spy BE + SpyCas9 + AAV
条件

图3C

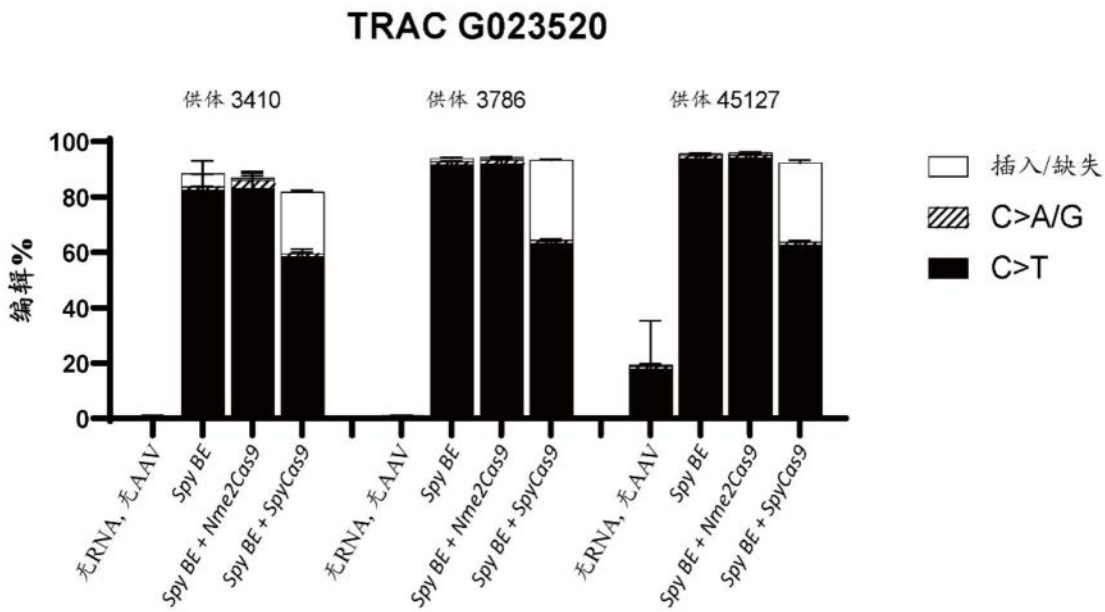

TRAC G023520
供体 3410
供体 3786
供体 45127
编辑%
100
80
60
40
20
0
插入/缺失
C>A/G
C>T
无RNA, 无AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9

图4A

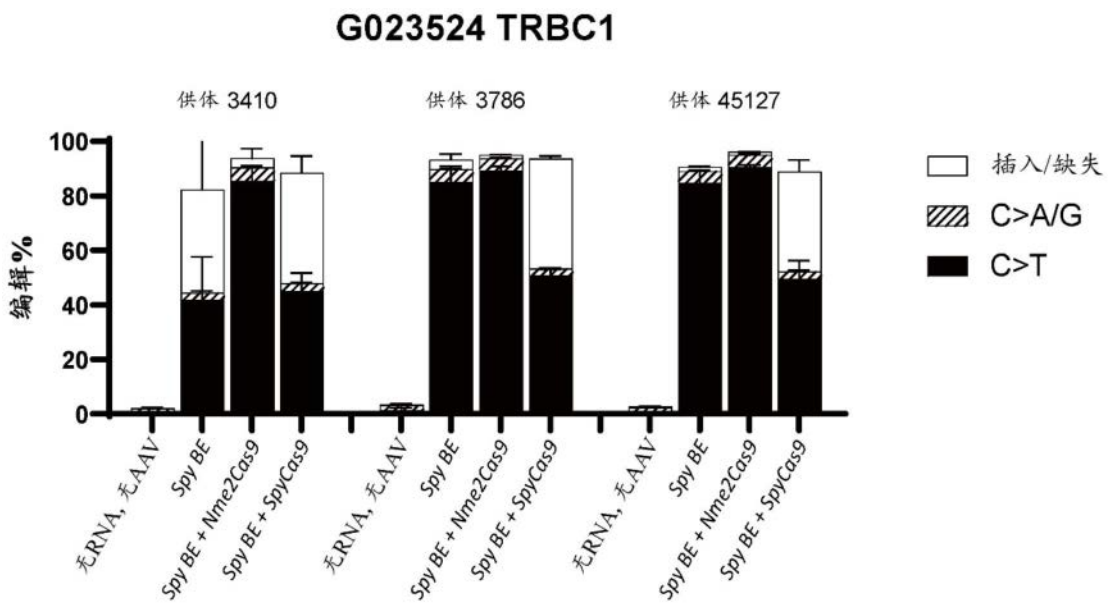

G023524 TRBC1
供体 3410
供体 3786
供体 45127
编辑%
100
80
60
40
20
0
插入/缺失
C>A/G
C>T
无RNA, 无AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9

图4B

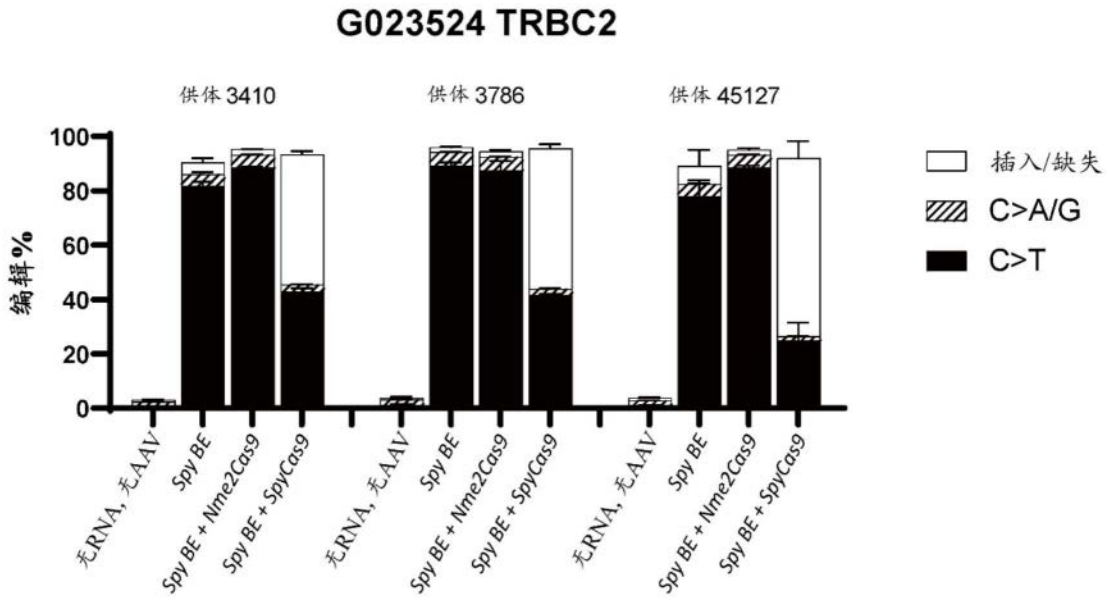

G023524 TRBC2
供体 3410
供体 3786
供体 45127
编辑%
100
80
60
40
20
0
插入/缺失
C>A/G
C>T
无RNA, 无AAV
Spy BE
Spy BE + Nme2Cas9
Spy BE + SpyCas9

图4C

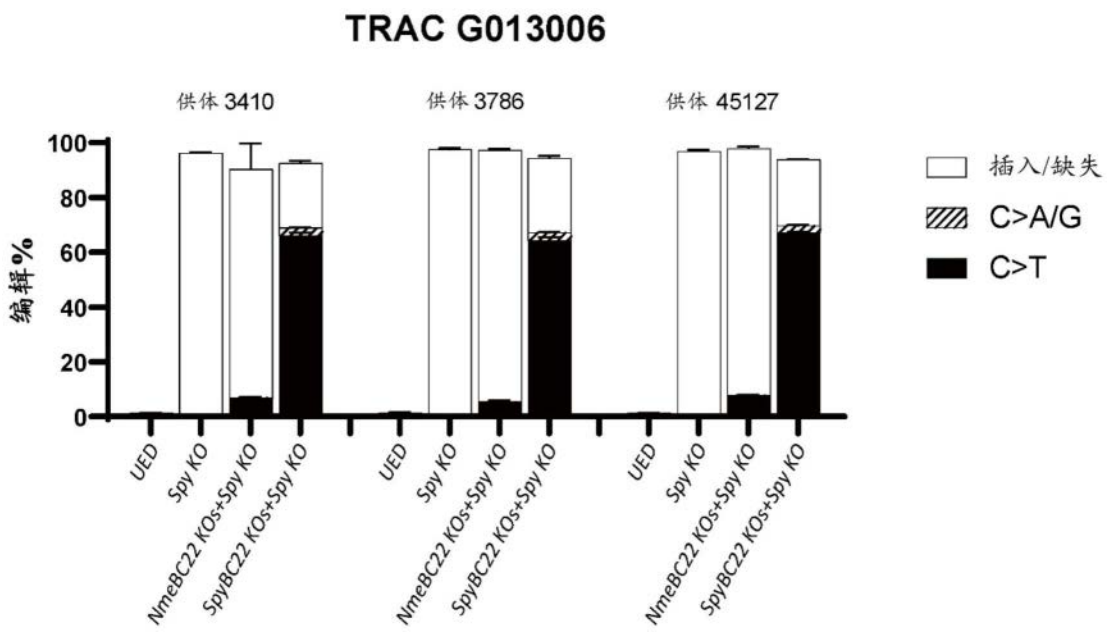

TRAC G013006
供体 3410
供体 3786
供体 45127
编辑%
100
80
60
40
20
0
插入/缺失
C>A/G
C>T
UED
Spy KO
NmeBC22 KOs+Spy KO
SpyBC22 KOs+Spy KO

图4D

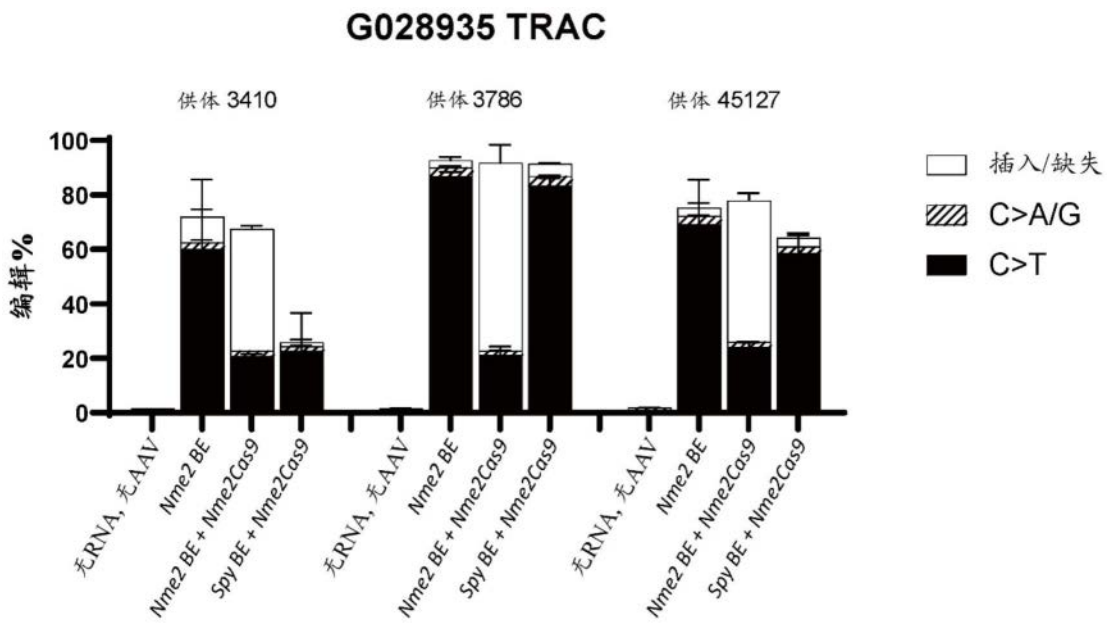

G028935 TRAC
供体 3410
供体 3786
供体 45127
编辑%
100
80
60
40
20
0
插入/缺失
C>A/G
C>T
无RNA, 无AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Spy BE + Nme2Cas9

图4E

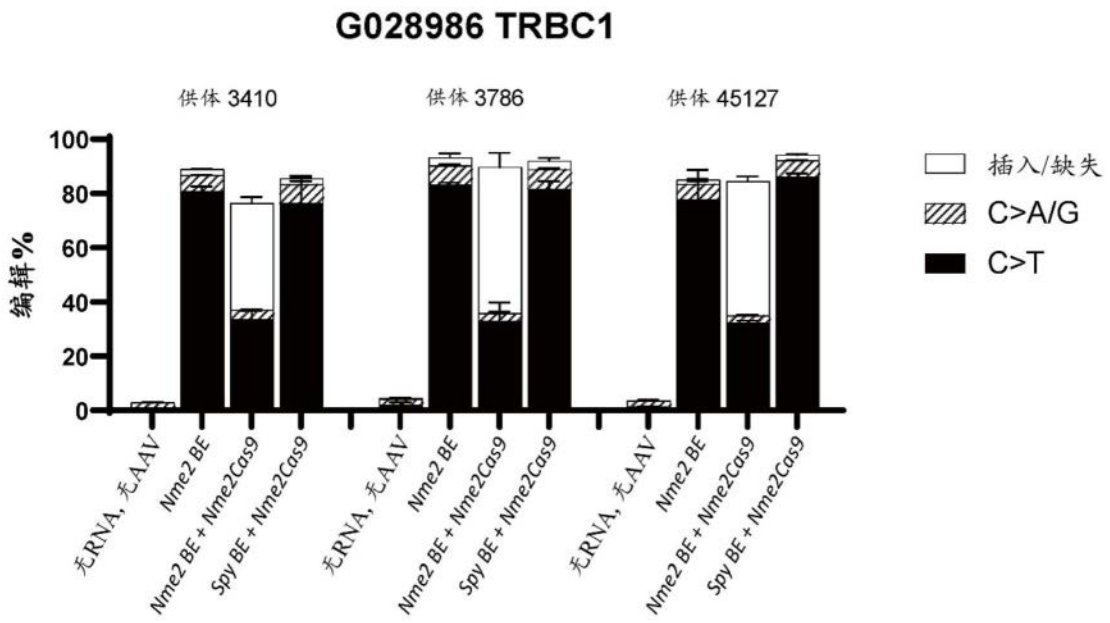

G028986 TRBC1
供体 3410
供体 3786
供体 45127
编辑%
100
80
60
40
20
0
插入/缺失
C>A/G
C>T
无RNA, 无AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Spy BE + Nme2Cas9

图4F

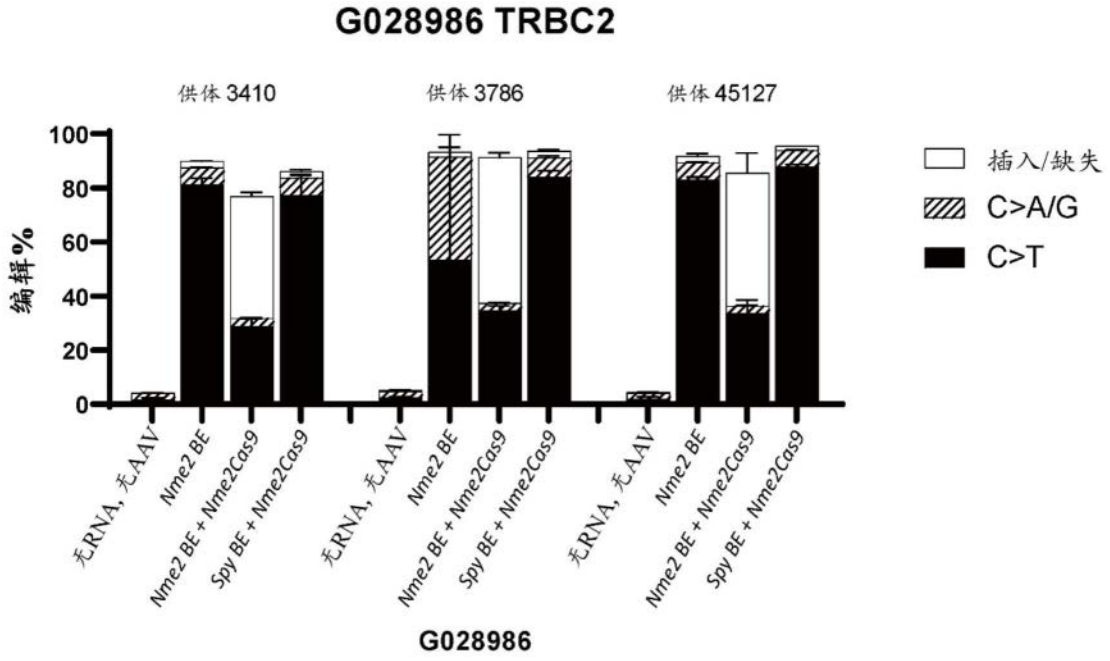

G028986 TRBC2
供体 3410
供体 3786
供体 45127
编辑%
100
80
60
40
20
0
插入/缺失
C>A/G
C>T
无RNA, 无AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Spy BE + Nme2Cas9
G028986

图4G

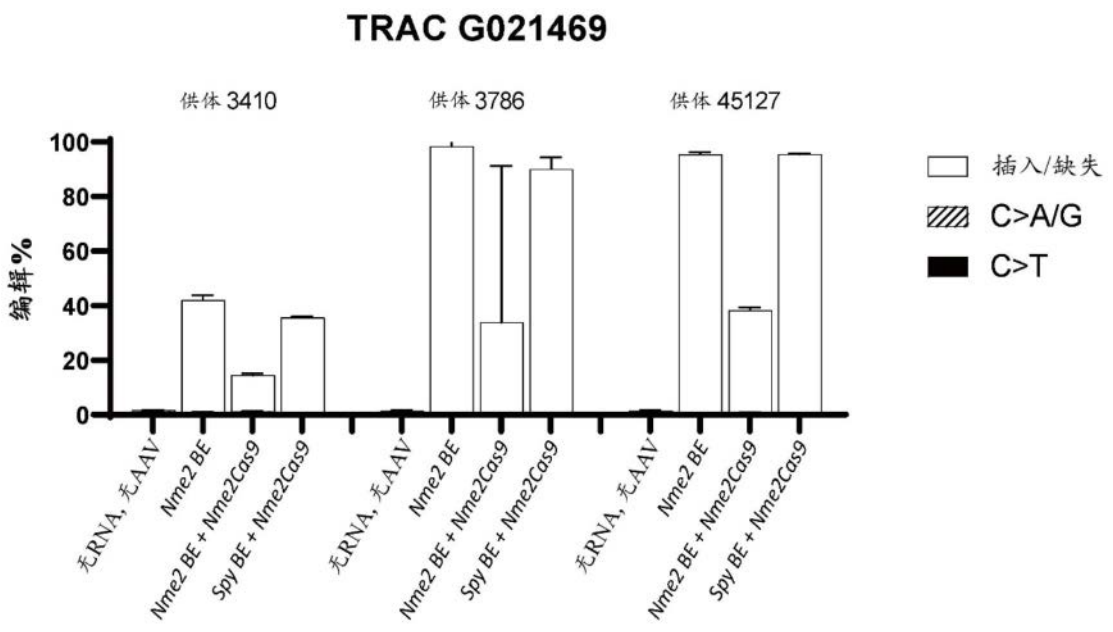
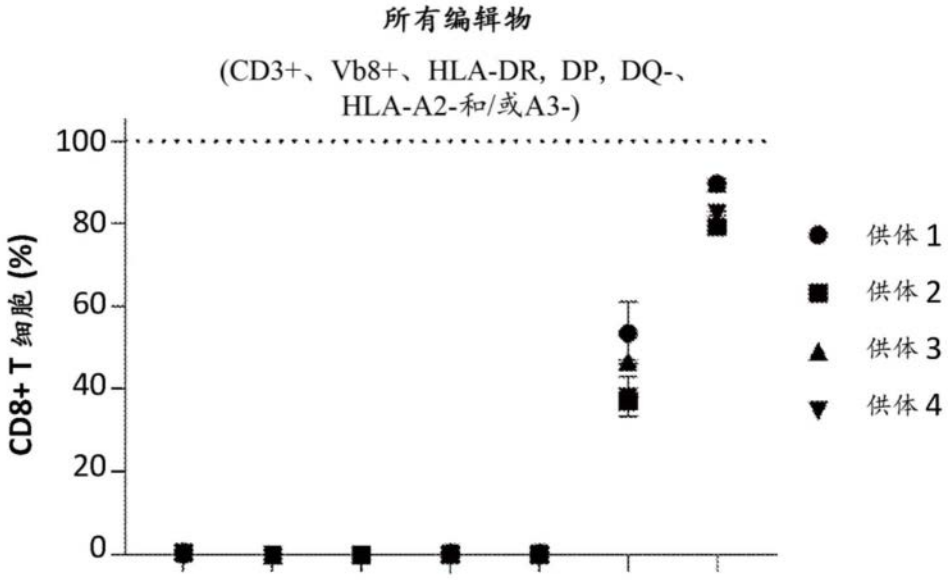
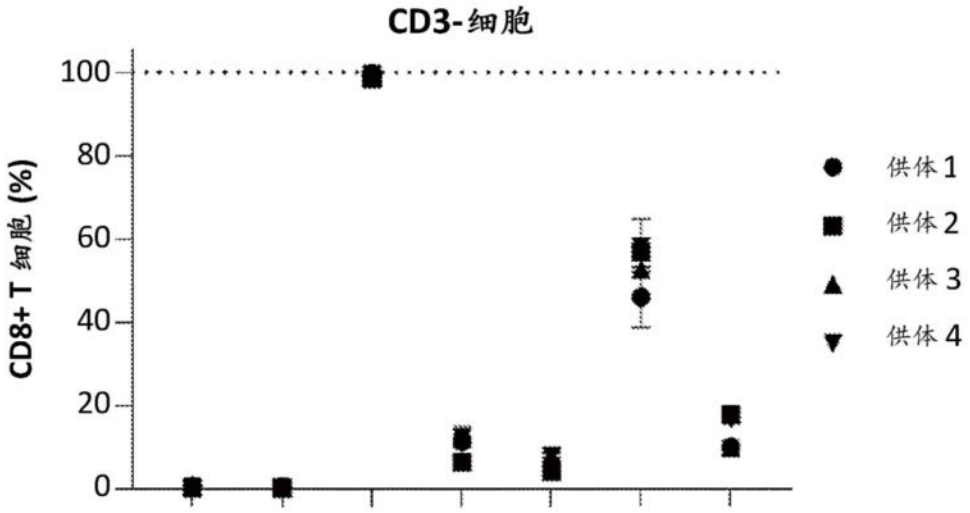

TRAC G021469
供体 3410
供体 3786
供体 45127
编辑%
100
80
60
40
20
0
插入/缺失
C>A/G
C>T
无RNA, 无AAV
Nme2 BE
Nme2 BE + Nme2Cas9
Spy BE + Nme2Cas9

图4H



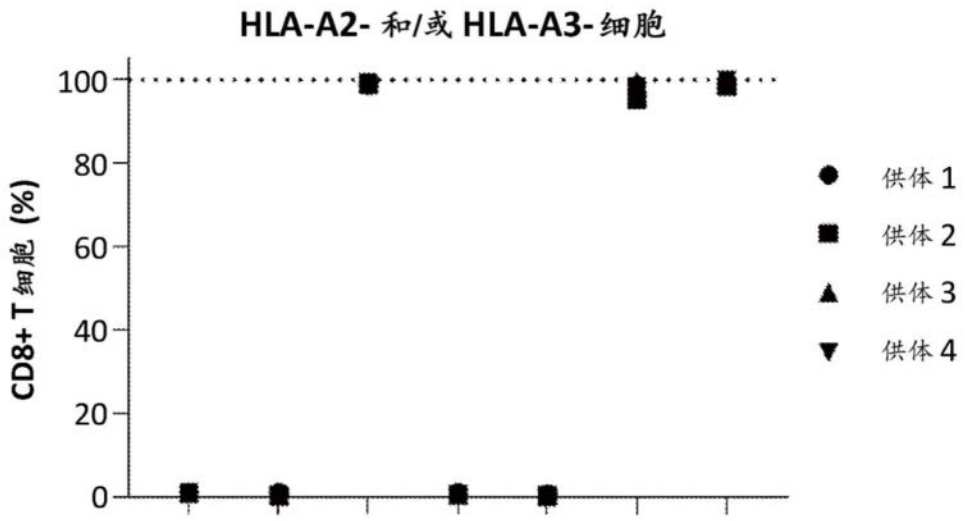
SpBC22n mRNA	-	-	+	-	-	+	+
UGI mRNA	-	-	+	-	-	+	+
TRAC G023520	-	-	+	-	-	+	+
TRBC1/2 G023524	-	-	+	-	-	+	+
CIITA G023521	-	-	+	-	-	+	+
HLA-A G023523	-	-	+	-	-	+	+
SpCas9 mRNA	-	-	-	+	-	+	-
TRAC G013006	-	-	-	+	-	+	-
Nme2 Cas9 mRNA	-	-	-	-	+	-	+
TRAC G021469	-	-	-	-	+	-	+
HD1 TCR AAV	-	+	-	+	+	+	+

图5A



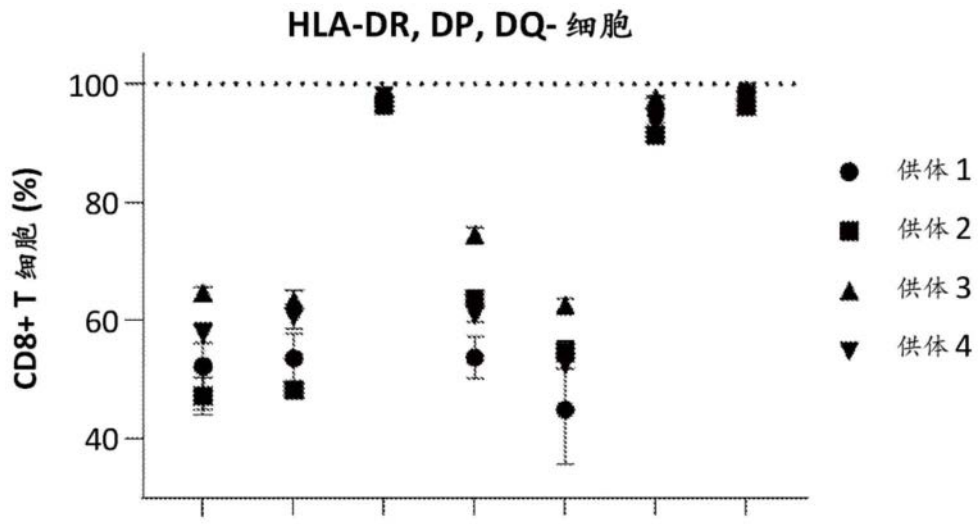
SpBC22n mRNA	-	-	+	-	-	+	+
UGI mRNA	-	-	+	-	-	+	+
TRAC G023520	-	-	+	-	-	+	+
TRBC1/2 G023524	-	-	+	-	-	+	+
CIITA G023521	-	-	+	-	-	+	+
HLA-A G023523	-	-	+	-	-	+	+
SpCas9 mRNA	-	-	-	+	-	+	-
TRAC G013006	-	-	-	+	-	+	-
Nme2 Cas9 mRNA	-	-	-	-	+	-	+
TRAC G021469	-	-	-	-	+	-	+
HD1 TCR AAV	-	+	-	+	+	+	+

图5B



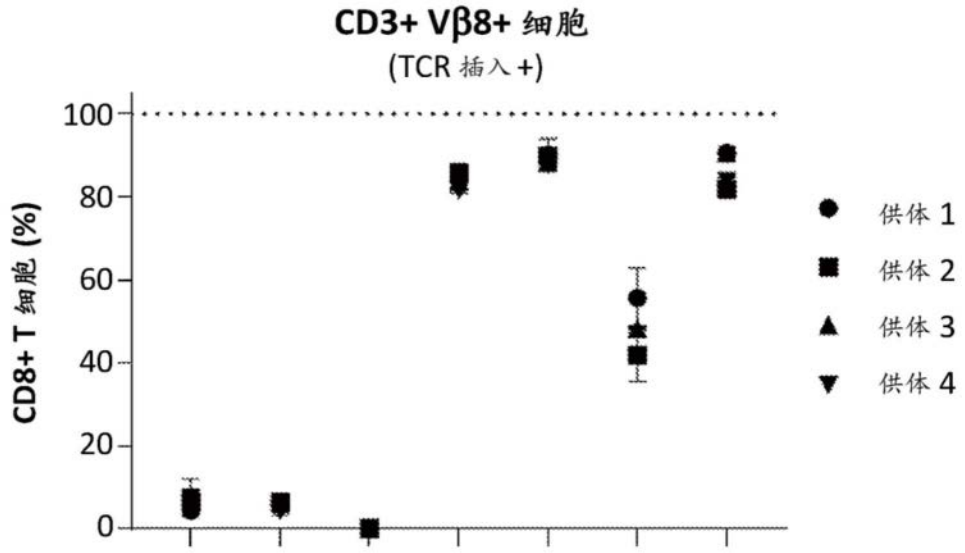
SpBC22n mRNA	-	-	+	-	-	+	+
UGI mRNA	-	-	+	-	-	+	+
TRAC G023520	-	-	+	-	-	+	+
TRBC1/2 G023524	-	-	+	-	-	+	+
CIITA G023521	-	-	+	-	-	+	+
HLA-A G023523	-	-	+	-	-	+	+
SpCas9 mRNA	-	-	-	+	-	+	-
TRAC G013006	-	-	-	+	-	+	-
Nme2 Cas9 mRNA	-	-	-	-	+	-	+
TRAC G021469	-	-	-	-	+	-	+
HD1 TCR AAV	-	+	-	+	+	+	+

图5C



SpBC22n mRNA	-	-	+	-	-	+	+
UGI mRNA	-	-	+	-	-	+	+
TRAC G023520	-	-	+	-	-	+	+
TRBC1/2 G023524	-	-	+	-	-	+	+
CIITA G023521	-	-	+	-	-	+	+
HLA-A G023523	-	-	+	-	-	+	+
SpCas9 mRNA	-	-	-	+	-	+	-
TRAC G013006	-	-	-	+	-	+	-
Nme2 Cas9 mRNA	-	-	-	-	+	-	+
TRAC G021469	-	-	-	-	+	-	+
HD1 TCR AAV	-	+	-	+	+	+	+

图5D



SpBC22n mRNA	-	-	+	-	-	+	+
UGI mRNA	-	-	+	-	-	+	+
TRAC G023520	-	-	+	-	-	+	+
TRBC1/2 G023524	-	-	+	-	-	+	+
CIITA G023521	-	-	+	-	-	+	+
HLA-A G023523	-	-	+	-	-	+	+
SpCas9 mRNA	-	-	-	+	-	+	-
TRAC G013006	-	-	-	+	-	+	-
Nme2 Cas9 mRNA	-	-	-	-	+	-	+
TRAC G021469	-	-	-	-	+	-	+
HD1 TCR AAV	-	+	-	+	+	+	+

图5E

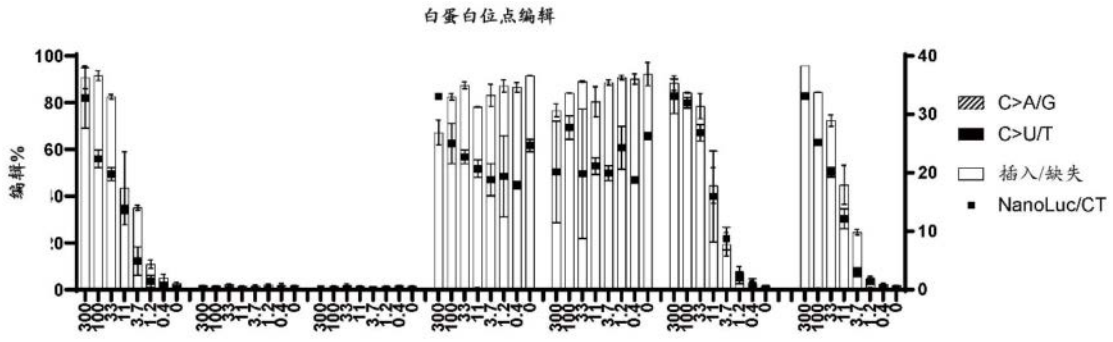


图6A

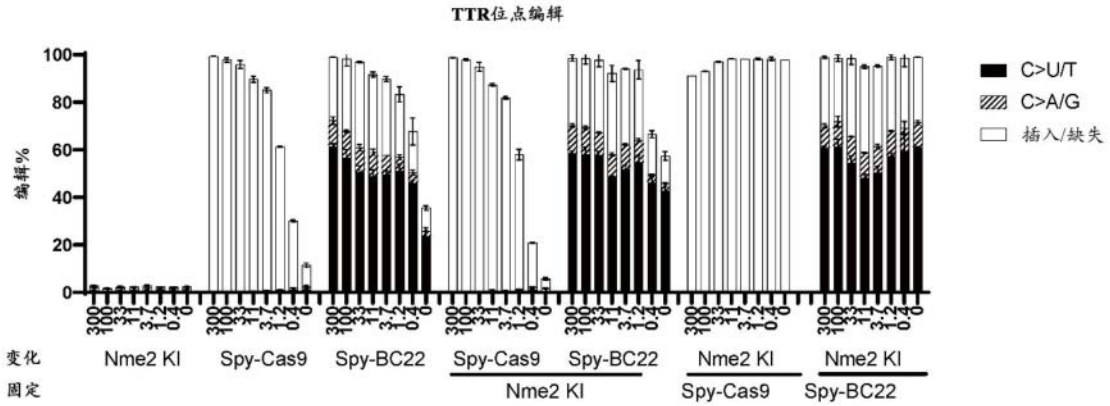

TTR位点编辑
编辑%
C>U/T
C>A/G
插入/缺失
变化
固定
Nme2 KI
Spy-Cas9
Spy-BC22
Spy-Cas9
Spy-BC22
Nme2 KI
Nme2 KI
Nme2 KI
Spy-Cas9
Spy-BC22

图6B

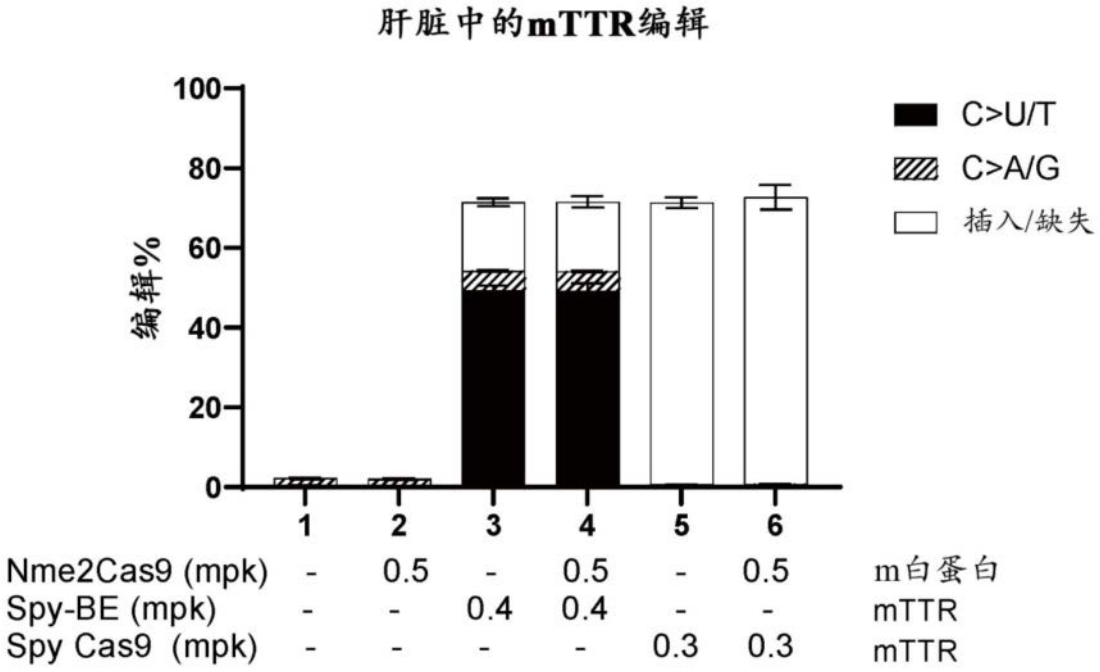

肝脏中的mTTR编辑
编辑%
C>U/T
C>A/G
插入/缺失
1 2 3 4 5 6
Nme2Cas9 (mpk) - 0.5 - 0.5 - 0.5 m白蛋白
Spy-BE (mpk) - - 0.4 0.4 - - mTTR
Spy Cas9 (mpk) - - - - 0.3 0.3 mTTR

图7A

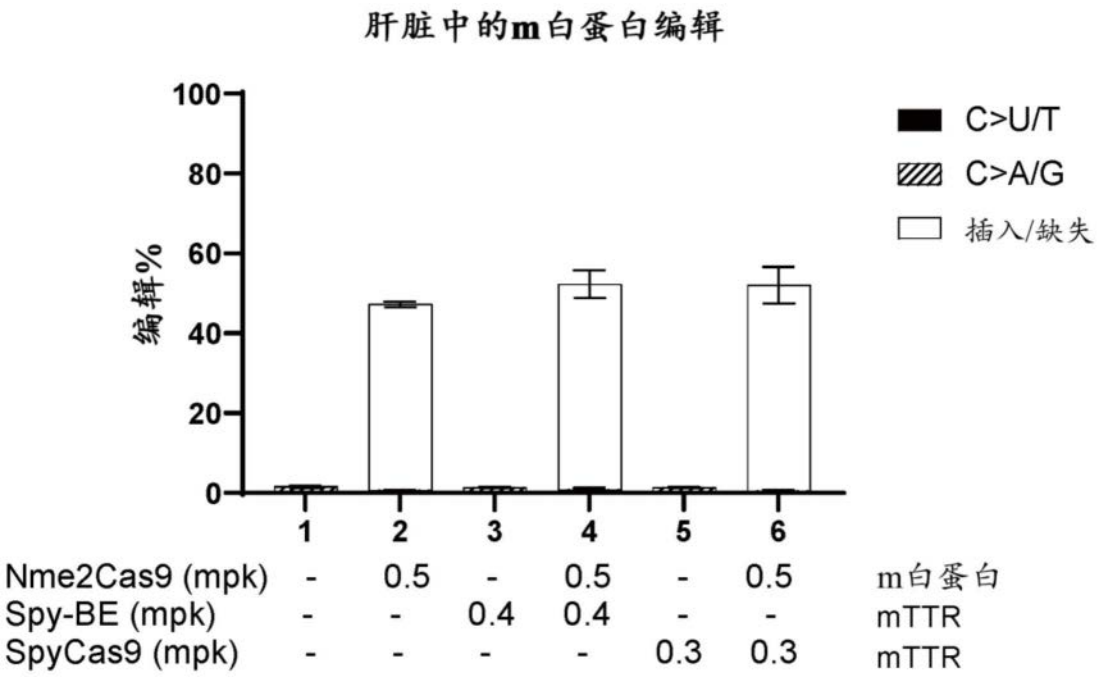

肝脏中的m白蛋白编辑
100
80
60
40
20
0
编辑%
C>U/T
C>A/G
插入/缺失
1 2 3 4 5 6
Nme2Cas9 (mpk) - 0.5 - 0.5 - 0.5 m白蛋白
Spy-BE (mpk) - - 0.4 0.4 - - mTTR
SpyCas9 (mpk) - - - - 0.3 0.3 mTTR

图7B

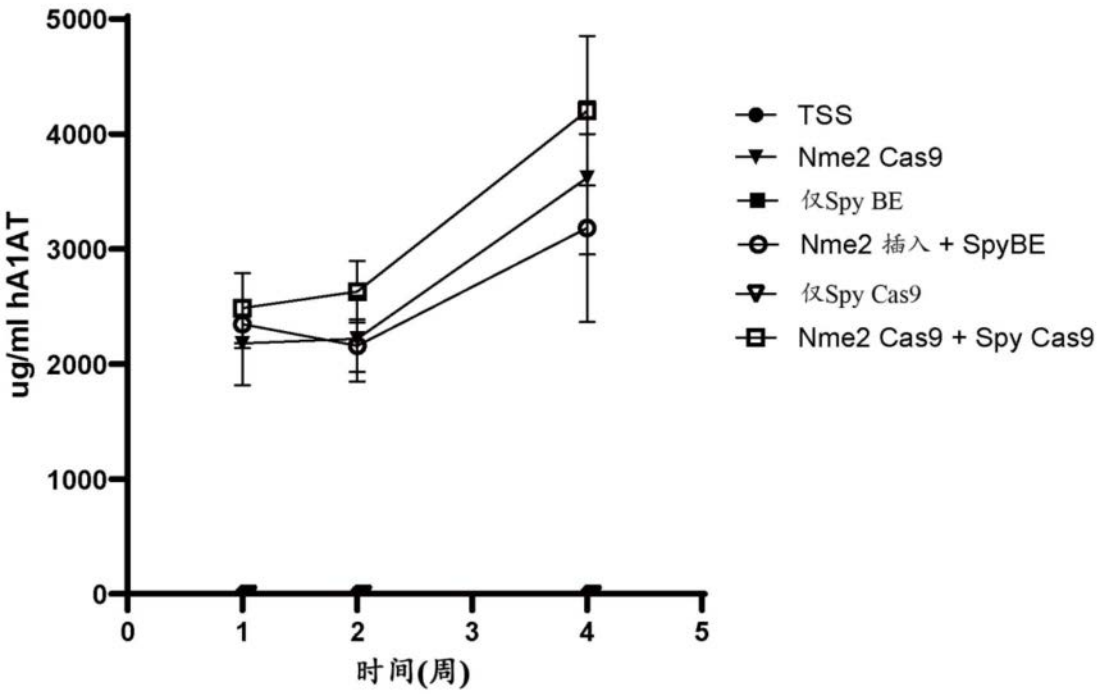

5000
4000
3000
2000
1000
0
ug/ml hA1AT
0 1 2 3 4 5
时间(周)
TSS
Nme2 Cas9
仅Spy BE
Nme2 插入 + SpyBE
仅Spy Cas9
Nme2 Cas9 + Spy Cas9

图7C

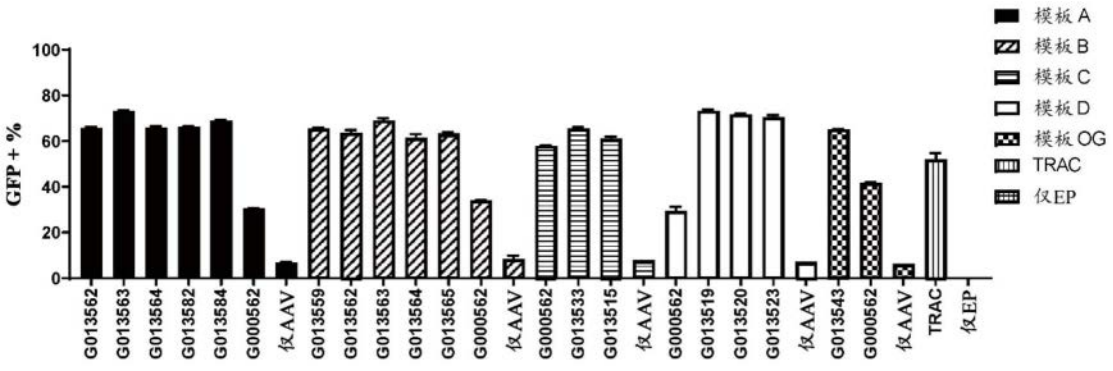

模板A
模板B
模板C
模板D
模板OG
TRAC
仅EP
GFP+%
100
80
60
40
20
0
G013562
G013563
G013564
G013582
G013584
G000562
仅AAV
G013559
G013562
G013563
G013564
G013565
G000562
仅AAV
G000562
G013533
G013515
仅AAV
G000562
G013519
G013520
G013523
仅AAV
G013543
G000562
仅AAV
TRAC
仅EP

图8A

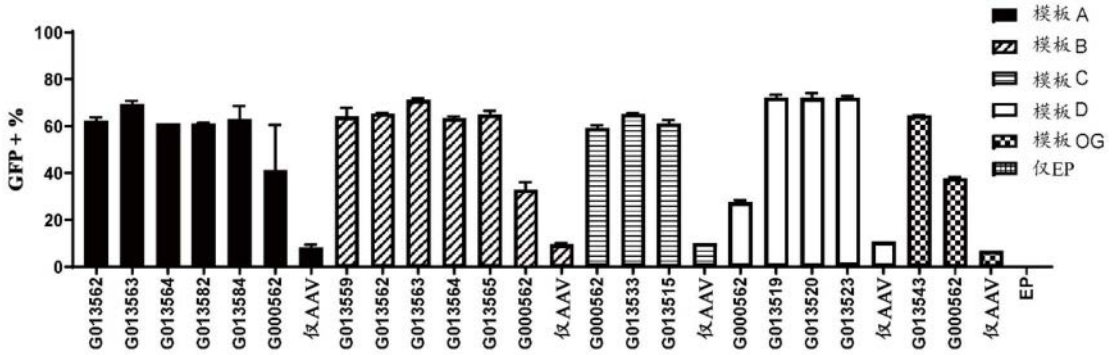

模板A
模板B
模板C
模板D
模板OG
仅EP
GFP+%
100
80
60
40
20
0
G013562
G013563
G013564
G013582
G013584
G000562
仅AAV
G013559
G013562
G013563
G013564
G013565
G000562
仅AAV
G000562
G013533
G013515
仅AAV
G000562
G013519
G013520
G013523
仅AAV
G013543
G000562
仅AAV
EP

图8B

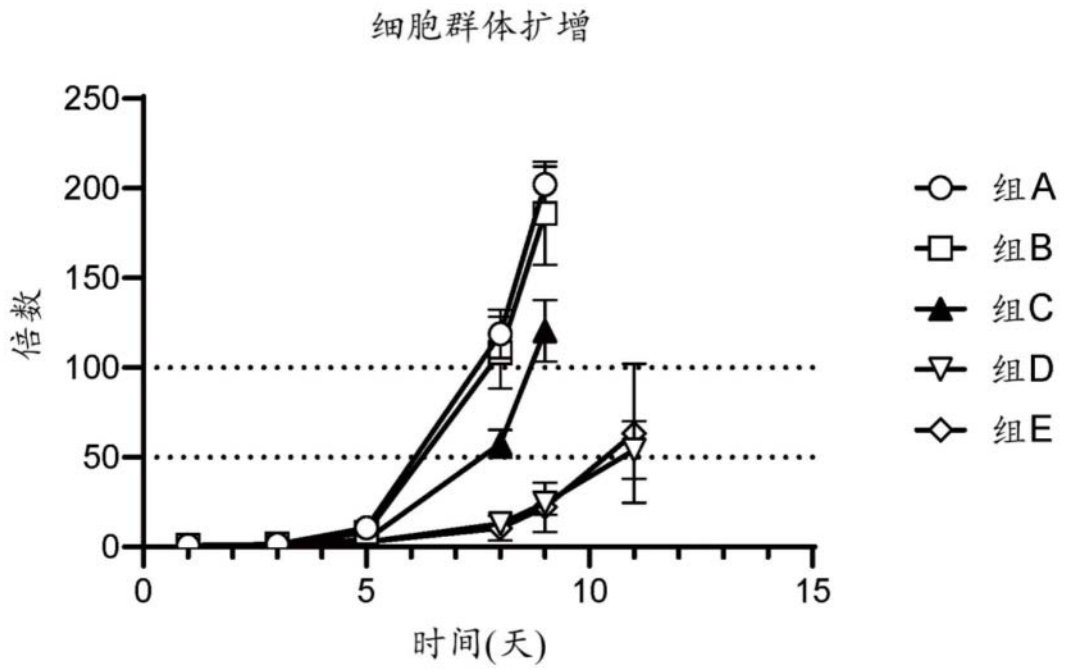

细胞群体扩增
倍数
250
200
150
100
50
0
0
5
10
15
时间(天)
组A
组B
组C
组D
组E

图9

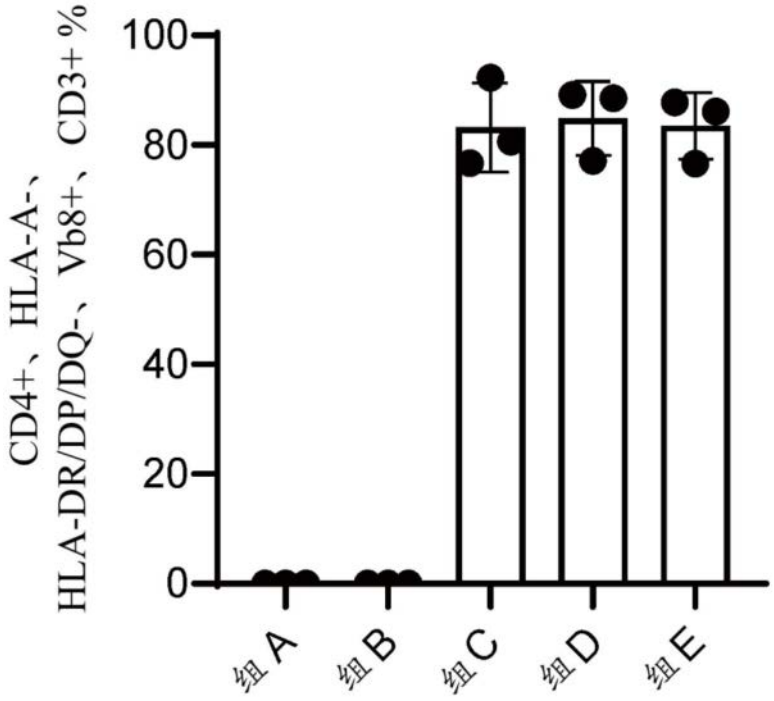

CD4+、HLA-A-、
HLA-DR/DP/DQ-、Vb8+、CD3+ %
100
80
60
40
20
0
组A
组B
组C
组D
组E

图10A

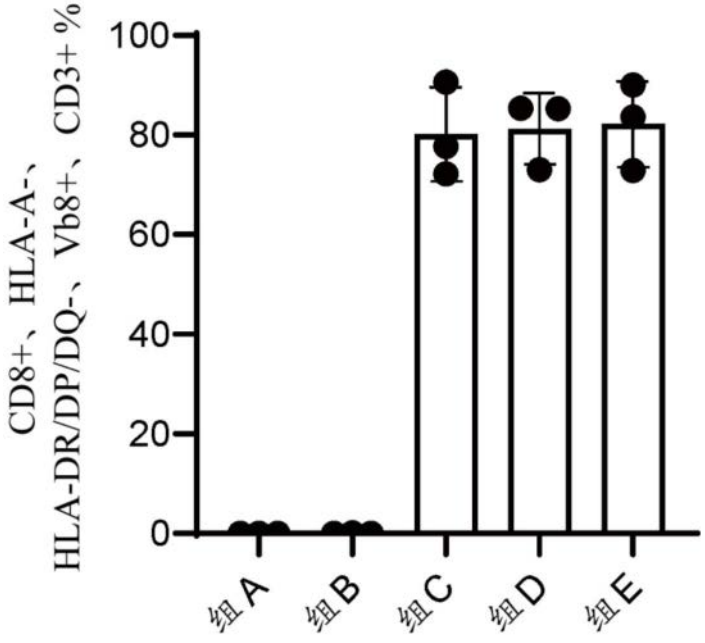

CD8+、HLA-A-、
HLA-DR/DP/DQ-、Vb8+、CD3+ %
100
80
60
40
20
0
组A
组B
组C
组D
组E

图10B

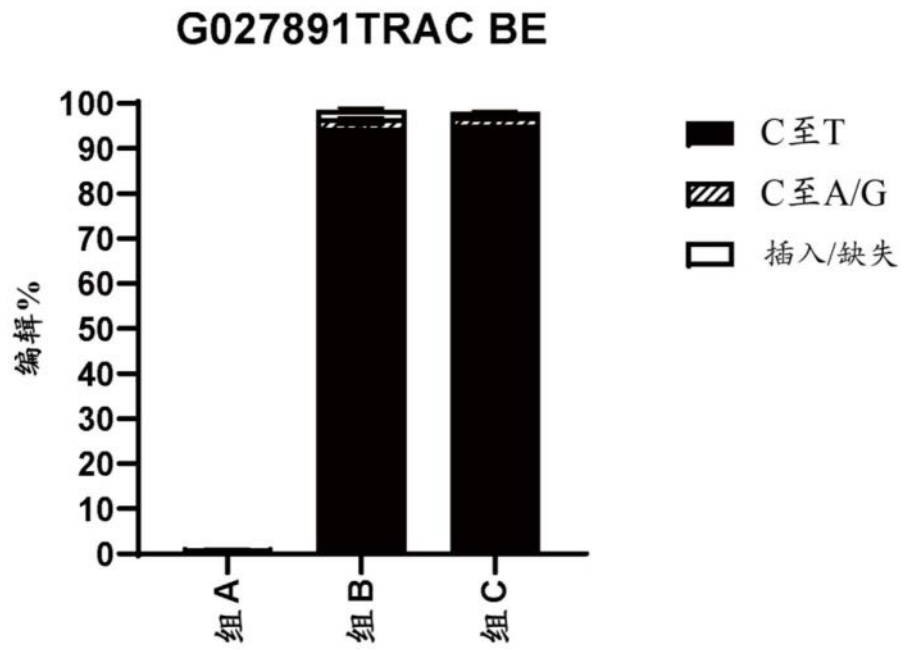

G027891TRAC BE
编辑%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
组A
组B
组C
C至T
C至A/G
插入/缺失

图11A

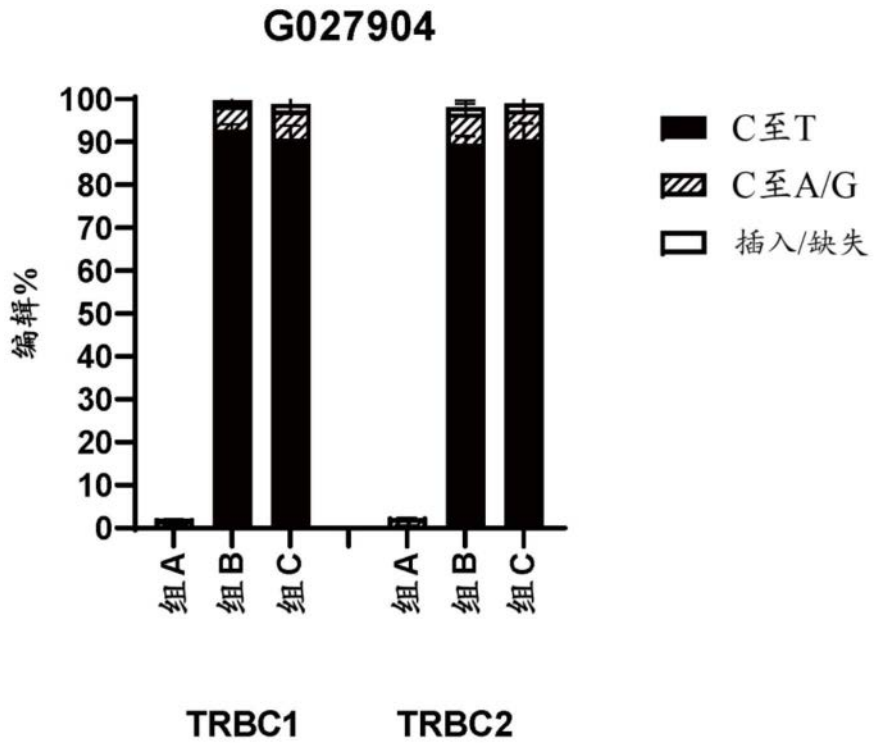

G027904
编辑%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
组A
组B
组C
组A
组B
组C
TRBC1
TRBC2
C至T
C至A/G
插入/缺失

图11B

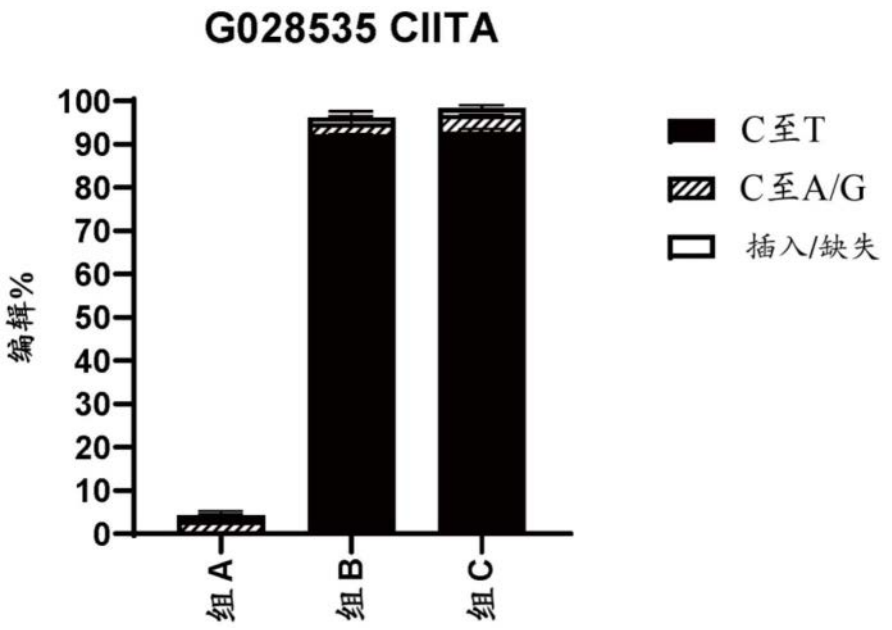

G028535 CIITA
编辑%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
组A
组B
组C
C至T
C至A/G
插入/缺失

图11C

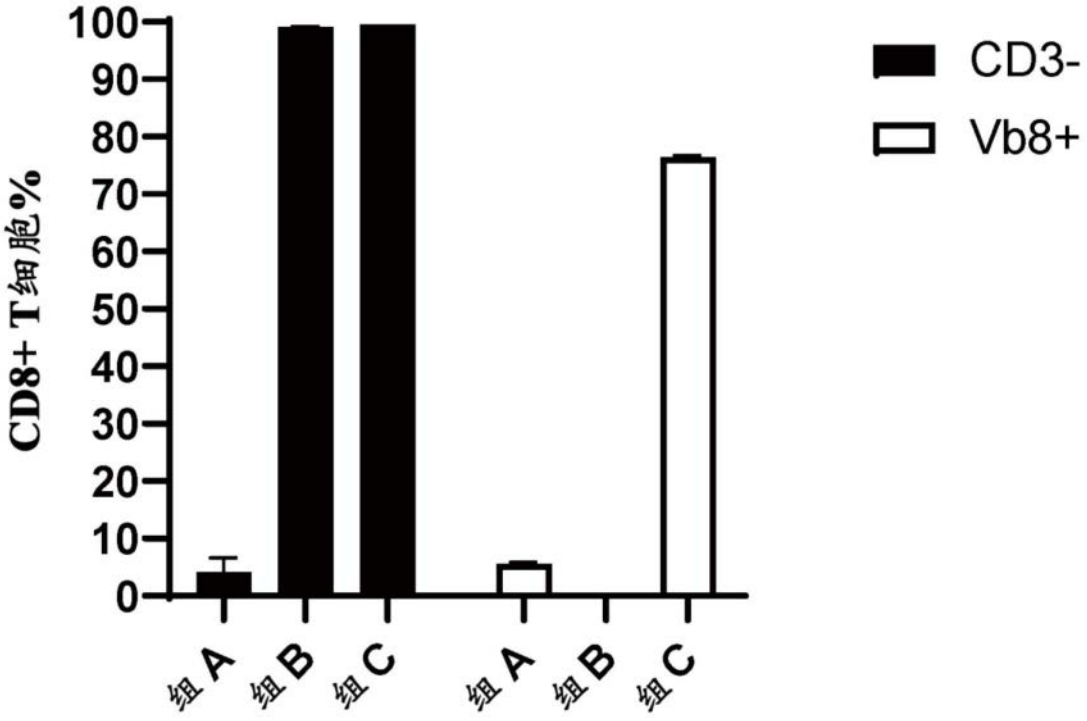

CD8+ T细胞%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
组A
组B
组C
组A
组B
组C
CD3-
Vb8+

图12A

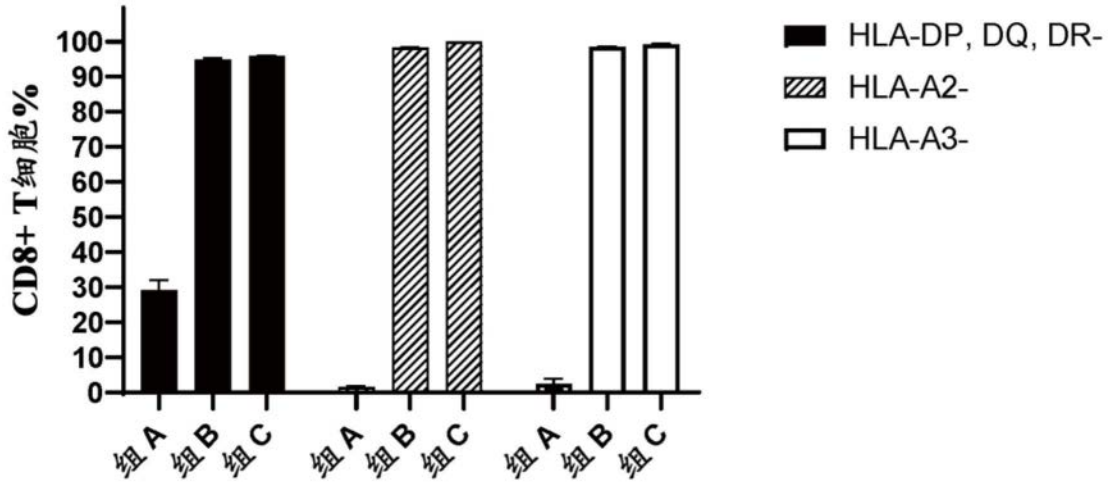

CD8+ T细胞%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
组A
组B
组C
组A
组B
组C
组A
组B
组C
HLA-DP, DQ, DR-
HLA-A2-
HLA-A3-

图12B

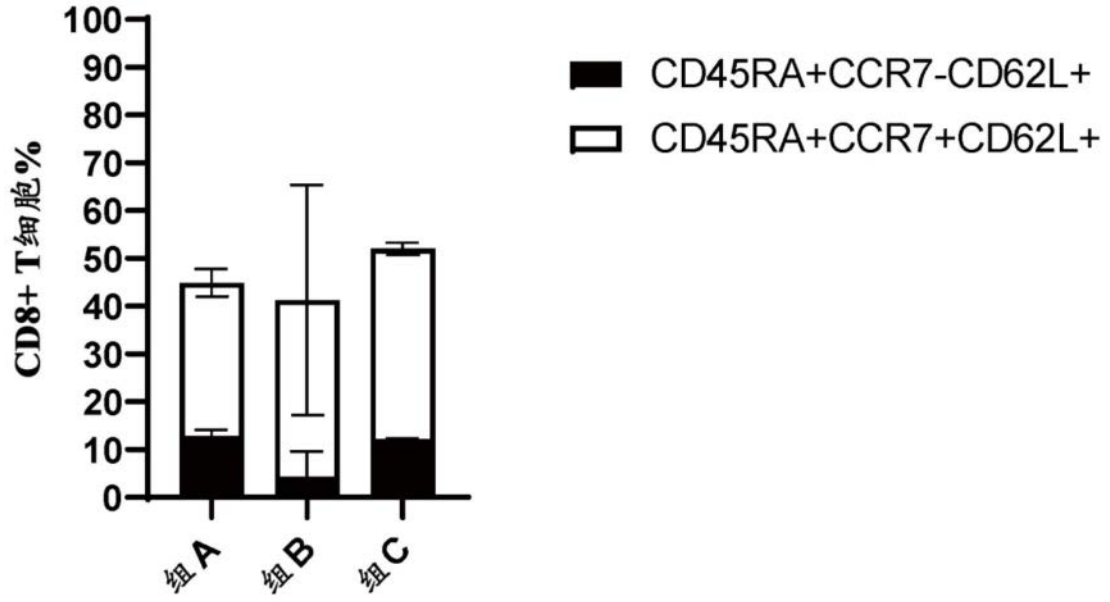

CD8+ T细胞%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
组A
组B
组C
CD45RA+CCR7-CD62L+
CD45RA+CCR7+CD62L+

图13A

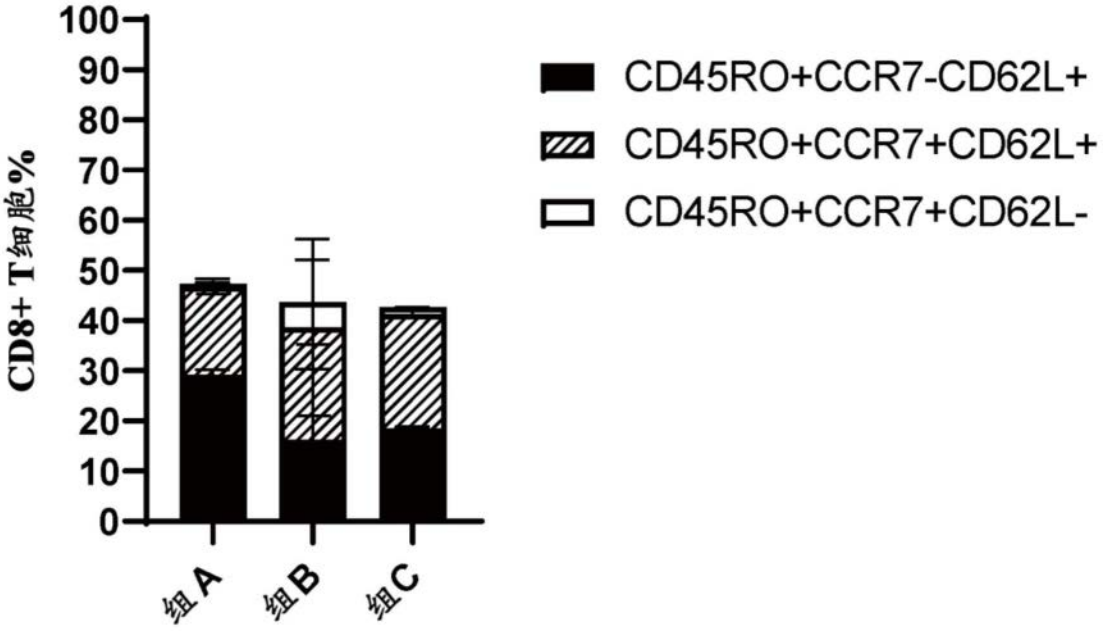

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
CD8+ T细胞%
组A
组B
组C
CD45RO+CCR7-CD62L+
CD45RO+CCR7+CD62L+
CD45RO+CCR7+CD62L-

图13B

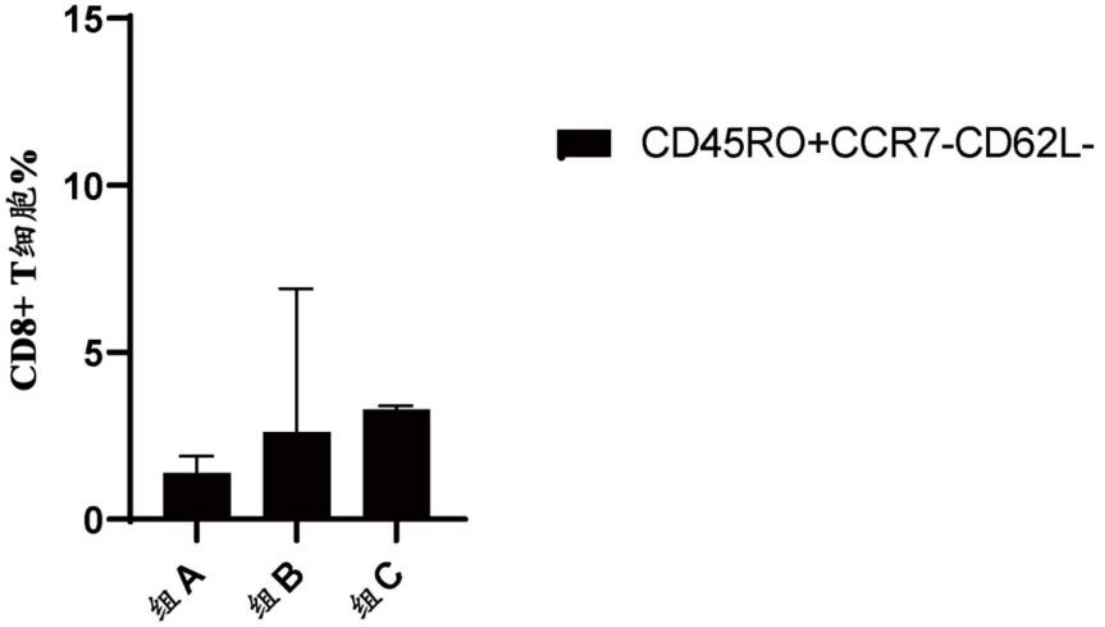

15
10
5
0
CD8+ T细胞%
组A
组B
组C
CD45RO+CCR7-CD62L-

图13C

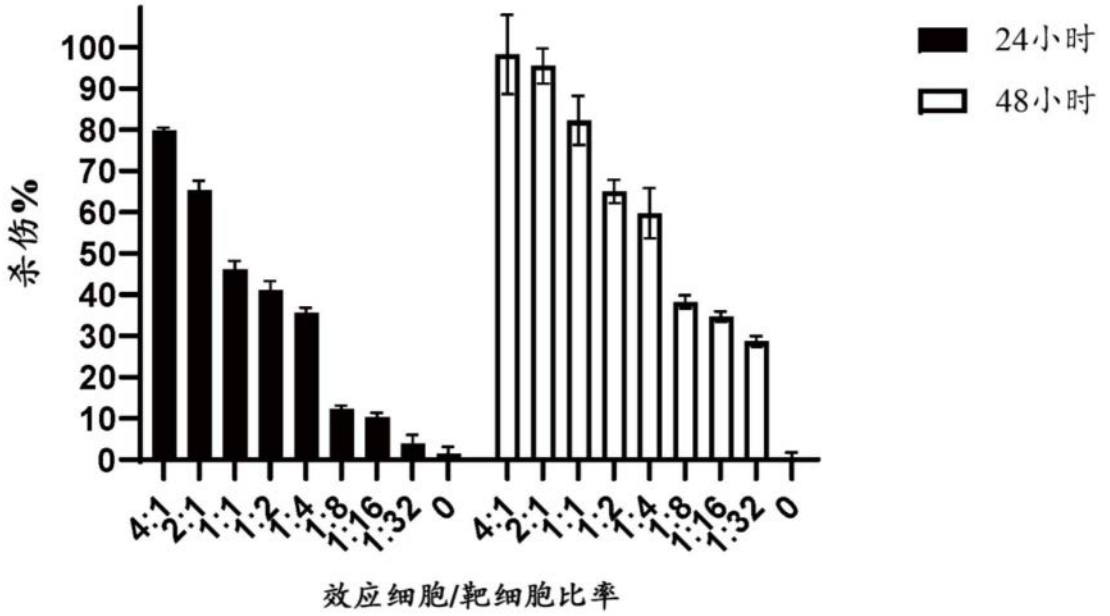

24小时
48小时
杀伤%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
4:1
2:1
1:1
1:2
1:4
1:8
1:16
1:32
0
效应细胞/靶细胞比率

图14

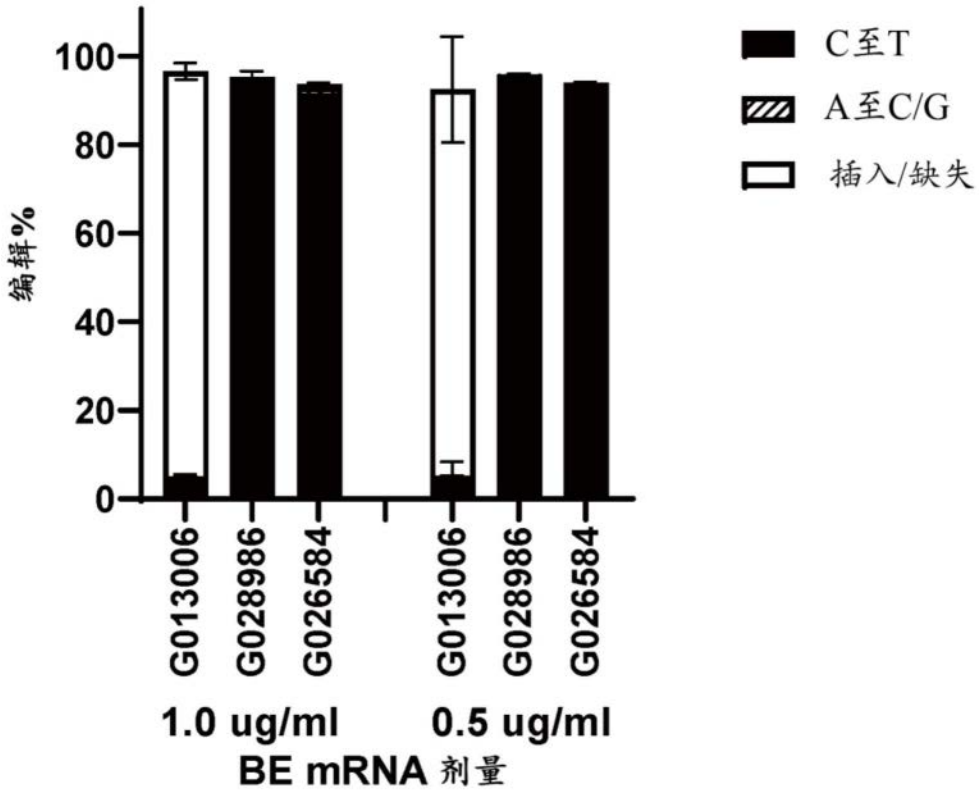

C至T
A至C/G
插入/缺失
编辑%
100
80
60
40
20
0
G013006
G028986
G026584
1.0 ug/ml
0.5 ug/ml
BE mRNA 剂量

图15

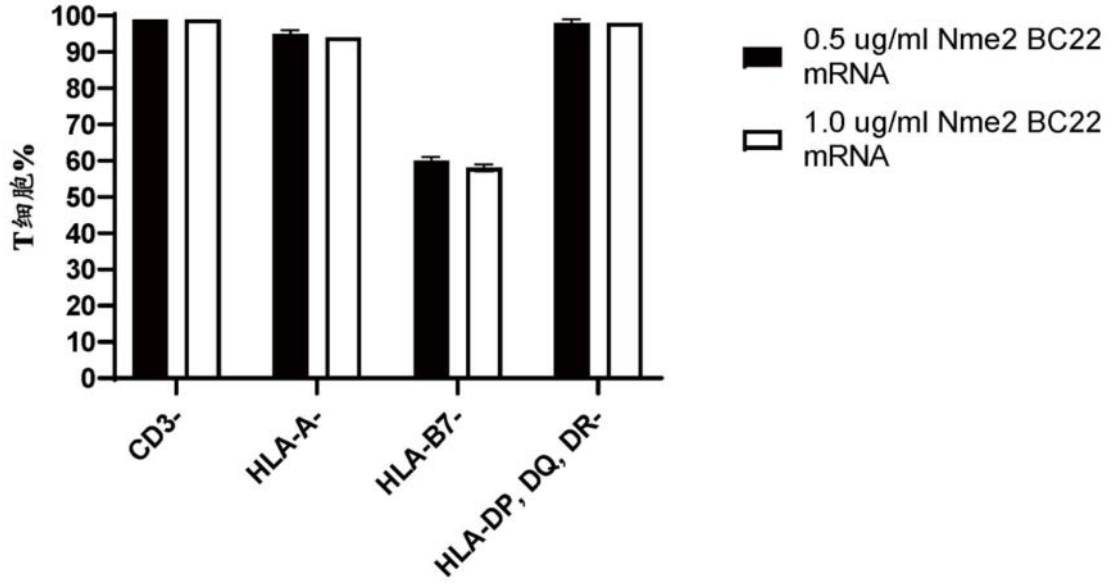

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
T细胞%
CD3-
HLA-A-
HLA-B7-
HLA-DP, DQ, DR-
0.5 ug/ml Nme2 BC22 mRNA
1.0 ug/ml Nme2 BC22 mRNA

图16