



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0134543
(43) 공개일자 2023년09월21일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 9/22 (2006.01) C12N 15/113 (2010.01)
C12N 15/88 (2017.01) C12N 15/90 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C12N 9/22 (2013.01)
C12N 15/1137 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2023-7028011</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2022년01월21일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2023년08월17일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2022/013396</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2022/159758
국제공개일자 2022년07월28일</p> <p>(30) 우선권주장
63/140,620 2021년01월22일 미국(US)
63/237,484 2021년08월26일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
메타지노미, 인크.
미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 파크 애비뉴 1545</p> <p>(72) 발명자
토마스 브라이언 씨
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
브라운 크리스토퍼
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
김진희, 김태홍</p> |
|---|--|

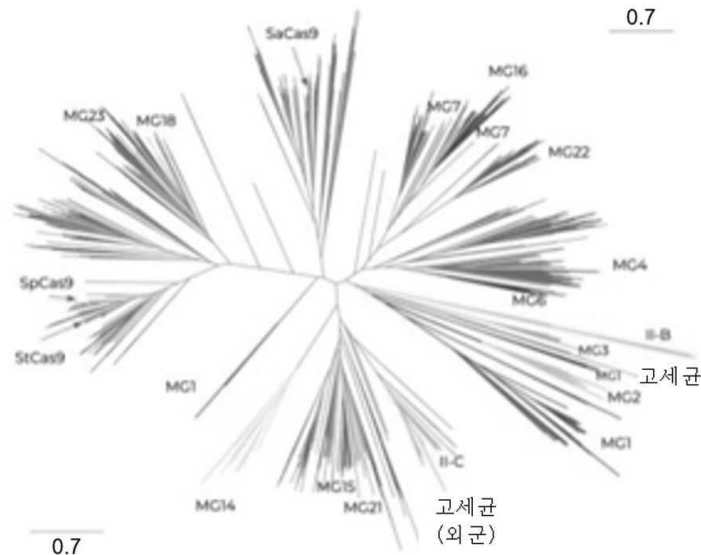
전체 청구항 수 : 총 81 항

(54) 발명의 명칭 **신규한 조작된 뉴클레아제 및 키메라 뉴클레아제**

(57) 요약

키메라 뉴클레아제 및 키메라 뉴클레아제 시스템을 포함하여, 조작된 뉴클레아제 및 뉴클레아제 시스템이 본원에 개시된다. 본원에 개시된 조작된 키메라 뉴클레아제는 핵산 가이드된 뉴클레아제를 포함한다. 추가로, 조작된 뉴클레아제를 생성하는 방법 및 이의 사용 방법이 본원에 개시된다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

C12N 15/88 (2013.01)

C12N 15/907 (2013.01)

C12N 2310/20 (2017.05)

C12N 2310/315 (2013.01)

C12N 2310/321 (2013.01)

(72) 발명자

버터필드 크리스티나

미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545

린 준-리앙

미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545

브룩스 앨런

미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545

테모체-디아즈 모라이마 엠

미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545

코스트 그렉

미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545

라모테 레베카

미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545

명세서

청구범위

청구항 1

융합 엔도뉴클레아제로서,

(a) 서열번호 696 또는 이의 변이체와 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제의 RuvC 도메인, REC 도메인, 또는 NHN 도메인의 적어도 일부를 포함하는 N-말단 서열; 및

(b) 서열번호 697~721 또는 이의 변이체 중 어느 하나와 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제의 WED, TOPO, 또는 CTD 도메인을 포함하는 C-말단 서열을 포함하되, 상기 N-말단 서열 및 상기 C-말단 서열은 동일한 해독 프레임에서 함께 자연적으로 발생하지 않는, 융합 엔도뉴클레아제.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 N-말단 서열 및 상기 C-말단 서열은 상이한 유기체로부터 유래되는, 융합 엔도뉴클레아제.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 N-말단 서열은 RuvC-I, BH, 또는 RuvC-II 도메인을 추가로 포함하는, 융합 엔도뉴클레아제.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 N-말단 서열은 PAM-상호작용 도메인을 추가로 포함하는, 융합 엔도뉴클레아제.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 융합 엔도뉴클레아제는 서열번호 1~27 또는 108 중 어느 하나와 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 융합 엔도뉴클레아제.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 융합 엔도뉴클레아제는 mnRGGnT(서열번호 53)가 아닌 PAM에 결합하도록 구성되는, 융합 엔도뉴클레아제.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 융합 엔도뉴클레아제는 서열번호 46~52 또는 54~66 중 어느 하나를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성되는, 융합 엔도뉴클레아제.

청구항 8

서열번호 1~27 또는 108 중 어느 하나, 또는 이의 변이체와 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 조작된 아미노산 서열을 포함하는 엔도뉴클레아제.

청구항 9

서열번호 109~110 중 어느 하나, 또는 이의 변이체와 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 조작된 아미노산 서열을 포함하는 엔도뉴클레아제.

청구항 10

조작된 뉴클레아제 시스템으로서,

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 상기 엔도뉴클레아제; 및

상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함하되, 상기 엔도뉴클레아제는:

표적 데옥시리보핵산 서열에 혼성화되도록 구성된 가이드 리보핵산을 포함하되, 상기 가이드 리보핵산 서열은 상기 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성되는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 가이드 리보핵산은 상기 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 tracr 리보핵산 서열을 추가로 포함하는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 12

제10항 또는 제11항에 있어서, 상기 엔도뉴클레아제는 미배양 미생물로부터 유래되는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 엔도뉴클레아제는 Cas9 엔도뉴클레아제, Cas14 엔도뉴클레아제, Cas12a 엔도뉴클레아제, Cas12b 엔도뉴클레아제, Cas 12c 엔도뉴클레아제, Cas12d 엔도뉴클레아제, Cas12e 엔도뉴클레아제, Cas13a 엔도뉴클레아제, Cas13b 엔도뉴클레아제, Cas13c 엔도뉴클레아제, 또는 Cas13d 엔도뉴클레아제가 아닌, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 14

제10항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 엔도뉴클레아제는 SpyCas9 엔도뉴클레아제와 86% 미만의 동일성을 갖는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 15

제10항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시스템은 Mg²⁺의 소스를 추가로 포함하는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 16

제10항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 엔도뉴클레아제는 서열번호 8~12, 26~27, 또는 108 중 어느 하나 또는 이의 변이체와 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 17

제10항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 33, 34, 44, 45, 78, 84, 또는 87 중 어느 하나의 비측퇴 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 18

조작된 뉴클레아제로서,

(a) 서열번호 1~27, 108, 또는 109~110 중 어느 하나, 또는 이의 변이체의 RuvC 및 HNH 도메인과 적어도 55%의 서열 동일성을 갖는 클래스 II, II형 Cas 효소 RuvC 및 HNH 도메인; 및

(b) 서열번호 1~27, 108, 또는 109~110 중 어느 하나, 또는 이의 변이체의 PAM-상호작용(PI) 도메인과 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 클래스 II, II형 Cas 효소 PAM-상호작용(PI) 도메인을 포함하는, 조작된 뉴클레아제.

청구항 19

제18항에 있어서, (a)와 (b)는 함께 자연적으로 발생하지 않는, 조작된 뉴클레아제.

청구항 20

제18항 또는 제19항에 있어서, 상기 클래스 II, II형 Cas 효소는 미배양 미생물로부터 유래되는, 조작된 뉴클레아제.

청구항 21

제18항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 엔도뉴클레아제는 SpyCas9 엔도뉴클레아제와 86% 미만의 동일성을 갖는, 조작된 뉴클레아제.

청구항 22

제18항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 엔도뉴클레아제는 서열번호 1~27 중 어느 하나와 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 조작된 뉴클레아제.

청구항 23

조작된 뉴클레아제 시스템으로서,

제18항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 엔도뉴클레아제; 및

상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함하되, 상기 엔도뉴클레아제는:

표적 테옥시리보핵산 서열에 혼성화되도록 구성되고 상기 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 가이드 리보핵산 서열을 포함하는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 가이드 리보핵산은 상기 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 tracr 리보핵산 서열을 추가로 포함하는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, 상기 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 28~32 또는 33~34 중 어느 하나 또는 이의 변이체의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 26

제23항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적 핵산 부위에 인접한 상기 뉴클레아제와 양립 가능한 PAM 서열을 추가로 포함하는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 PAM 서열은 상기 표적 테옥시리보핵산 서열의 3' 에 위치하는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 28

제26항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PAM 서열은 서열번호 46 내지 66 중 어느 하나를 포함하는, 조작된 뉴클레아제 시스템.

청구항 29

알부민 유전자를 표적화하는 방법으로서, 제23항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 시스템을 세포에 도입하는 단계를 포함하되, 상기 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 67~86 중 어느 하나를 포함하는 서열에 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 30

HA01 유전자를 표적화하는 방법으로서, 제23항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 시스템을 세포에 도입하는 단계를 포함하되, 상기 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 611~633 중 어느 하나에 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 615, 618, 620, 624, 또는 626 중 어느 하나에 혼성화 되도록 구성되는, 방법.

청구항 32

제30항에 있어서, 상기 가이드 리보핵산은 서열번호 645~684 중 어느 하나에 따른 서열을 포함하는, 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 가이드 리보핵산은 서열번호 645~649, 652~656, 660~671, 674~675, 또는 681~684 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열, 또는 서열번호 645~649, 652~656, 660~671, 674~675, 또는 681~684 중 어느 하나의 표적화 서열과 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 34

세포에서 HAO-1 유전자좌를 파괴하는 방법으로서,

(a) 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하되, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 HAO-1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 표적화 서열을 포함하고,

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 611~626 또는 627~633과 적어도 80% 동일성을 갖는 표적화 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하는, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 제1항 내지 제9항 또는 제18항 내지 제22항 중 어느 한 항의 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 36

제34항 또는 제35항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 37

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 가진 서열을 포함하는, 방법.

청구항 38

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 618, 620, 624, 또는 626 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열, 또는 서열번호 618, 620, 624, 또는 626 중 어느 하나의 표적화 서열과 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 39

제34항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 9 또는 표 12의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 40

세포에서 TRAC 유전자좌를 파괴하는 방법으로서,

(a) 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하되, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRAC 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 표적화 서열을 포함하고,

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 139~158과 적어도 80% 동일성을 갖는 표적화 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 119~138 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 제1항 내지 제9항 또는 제18항 내지 제22항 중 어느 한 항의 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 42

제40항 또는 제41항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55% 동일성을 갖는 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 43

제40항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 가진 서열을 포함하는, 방법.

청구항 44

제40항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 121, 132, 136, 130, 134, 135, 또는 137 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열, 또는 서열번호 121, 132, 136, 136, 130, 134, 135, 또는 137 중 어느 하나의 표적화 서열과 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 45

제40항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7A의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 46

세포에서 B2M 유전자좌를 파괴하는 방법으로서,

(a) 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하되, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 B2M 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 표적화 서열을 포함하고,

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 185~210과 적어도 80% 동일성을 갖는 표적화 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 159~184 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 제1항 내지 제9항 또는 제18항 내지 제22항 중 어느 한 항의 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 48

제46항 또는 제47항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 49

제46항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축된 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 가진 서열을 포함하는, 방법.

청구항 50

제46항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 159, 165, 168, 174, 또는 184 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열, 또는 서열번호 159, 165, 168, 174, 또는 184 중 어느 하나의 표적화 서열과 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 51

제46항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7B의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 52

세포에서 TRBC1 유전자좌를 파괴하는 방법으로서,

(a) 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하되, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRBC1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 표적화 서열을 포함하고,

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 252~292와 적어도 80% 동일성을 갖는 표적화 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 211~251 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 제1항 내지 제9항 또는 제18항 내지 제22항 중 어느 한 항의 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 54

제52항 또는 제53항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 55

제52항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축된 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 가진 서열을 포함하는, 방법.

청구항 56

제52항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 211, 212, 215, 241, 또는 242 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나, 서열번호 211, 212, 215, 241, 또는 242 중 어느 하나의 표적화 서열과 적어도 80% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

청구항 57

제52항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7C의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 58

세포에서 TRBC2 유전자좌를 파괴하는 방법으로서,

(a) 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하되, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRBC2 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 표적화 서열을 포함하고,

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 338~382와 적어도 80% 동일성을 갖는 표적화 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 293~337 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 제1항 내지 제9항 또는 제18항 내지 제22항 중 어느 한 항의 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 60

제58항 또는 제59항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 61

제58항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비측퇴 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 가진 서열을 포함하는, 방법.

청구항 62

제58항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 296, 306, 또는 332 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나, 서열번호 296, 306, 또는 332 중 어느 하나의 표적화 서열과 적어도 80% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

청구항 63

제58항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7C의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 64

세포에서 ANGPTL3 유전자좌를 파괴하는 방법으로서,

(a) 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하되, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 ANGPTL3 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 표적화 서열을 포함하고,

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 478~572와 적어도 80% 동일성을 갖는 표적화 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 383~477 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 제1항 내지 제9항 또는 제18항 내지 제22항 중 어느 한 항의 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 66

제64항 또는 제65항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적

어도 55% 동일성을 갖는 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 67

제64항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 가진 서열을 포함하는, 방법.

청구항 68

제64항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 419, 425, 431, 439, 447, 453, 461, 467, 471, 또는 473 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열, 또는 서열번호 419, 425, 431, 439, 447, 453, 461, 467, 471, 또는 473 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 69

제64항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7D의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 70

세포에서 PCSK9 유전자좌를 파괴하는 방법으로서,

(a) 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하되, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 PCSK9 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 표적화 서열을 포함하고,

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 588~602와 적어도 80% 동일성을 갖는 표적화 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 573~587 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 제1항 내지 제9항 또는 제18항 내지 제22항 중 어느 한 항의 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 72

제70항 또는 제71항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 73

제70항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 가진 서열을 포함하는, 방법.

청구항 74

제70항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드는 서열번호 574, 578, 581, 또는 585 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 75

제70항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7E의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 76

세포에서 알부민 유전자좌를 파괴하는 방법으로서,

(a) 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하되, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 알부민 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 표적화 서열을 포함하고,

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 67~86 또는 646~695 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나, 상기 조작된 가이드 RNASMS 서열번호 67~86 또는 646~695 중 어느 하나의 표적화 서열과 적어도 80% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

청구항 77

제76항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 제1항 내지 제9항 또는 제18항 내지 제22항 중 어느 한 항의 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 78

제76항 또는 제77항에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55% 동일성을 갖는 융합 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 79

제76항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 가진 서열을 포함하는, 방법.

청구항 80

제76항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 67, 68, 70, 71, 72, 76, 79, 80, 647, 648, 649, 653, 654, 655, 656, 673, 680, 681, 또는 682 중 어느 하나와 상보적이거나 이들 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 81

제76항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 6의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

상호 참조

[0002]

본 출원은 2021년 5월 6일에 “ENZYMES WITH RUVB DOMAINS” 라는 발명의 명칭으로 출원된 국제 출원 제 PCT/US2021/031136호 및 2020년 2월 14일에 “ENZYMES WITH RUVB DOMAINS” 라는 발명의 명칭으로 출원된 국제 출원 제PCT/US2020/018432호에 관한 것으로서, 상기 출원 각각은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0003]

본 출원은 2021년 8월 26일에 “NOVEL ENGERED AND CHIMERIC NUCLEASES” 라는 발명의 명칭으로 출원에 미국 특허 가출원 제63/237,484호 및 2021년 1월 22일에 “NOVEL ENGERED AND CHIMERIC NUCLEASES” 라는 발명의 명칭으로 출원된 미국 특허 가출원 제63/140,620호의 이익을 주장하며, 이들 출원 각각은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0004]

서열 목록

[0005]

본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출되고 그 전체가 참조로서 본원에 통합된 서열 목록을 포함한다. 2022년 6월 9일에 생성된 상기 ASCII 사본의 명칭은 55921-717_601_SL.txt이고 크기는 677,431 바이트이다.

배경 기술

[0006]

Cas 효소는 이와 연관된 일정한 간격을 두고 주기적으로 분포하는 짧은 회문 반복서열(CRISPR) 가이드 리보핵산(RNA)과 함께 원핵 면역 체계의 만연한(약 45%의 박테리아, 약 84%의 고세균) 구성요소인 것으로 보이는데,

이들은 CRISPR-RNA 가이드된 핵산 절단에 의해 비자기 핵산, 예컨대 감염성 바이러스 및 플라스미드에 대해 이러한 미생물을 보호하는 역할을 한다. CRISPR RNA 요소를 암호화하는 데옥시리보핵산(DNA) 요소는 구조 및 길이가 비교적 보존될 수 있지만, 이들의 CRISPR-연관(Cas) 단백질은 매우 다양하며, 매우 다양한 핵산-상호 작용 도메인을 함유한다. CRISPR DNA 요소는 1987년 초에 관찰되었지만, CRISPR/Cas 복합체의 프로그램 가능한 엔도뉴클레아제 절단 능력은 비교적 최근에 인식되었고, 이는 다양한 DNA 조작 및 유전자 편집 응용에서 제조할 CRISPR/Cas 시스템의 사용으로 이어지고 있다.

발명의 내용

- [0007] 일부 양태에서, 본 개시는 융합 엔도뉴클레아제를 제공하며, 상기 융합 엔도뉴클레아제는: (a) 서열번호 696 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제의 RuvC 도메인, REC 도메인, 또는 NHN 도메인의 적어도 일부를 포함하는 N-말단; 및 (b) 서열번호 697~721 중 어느 하나 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제의 WED, TOPO, 또는 CTD 도메인을 포함하는 C-말단을 포함하되, 상기 N-말단과 상기 C-말단은 동일한 관독 프레임에서 함께 자연 발생하지 않는다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 클래스 II, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 클래스 II, V형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 구현예에서, 상기 N-말단 서열 및 상기 C-말단 서열은 상이한 유기체로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 상기 N-말단 서열은 RuvC-I, BH, 또는 RuvC-II 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 C-말단 서열은 PAM-상호작용 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 융합 엔도뉴클레아제는 서열번호 1~27 또는 108 중 어느 하나와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 융합 엔도뉴클레아제는 nnRGGnT(서열번호 53)가 아닌 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 구현예에서, 상기 융합 엔도뉴클레아제는 서열번호 46~52 또는 54~66 중 어느 하나를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.
- [0008] 일부 양태에서, 본 개시는 서열번호 1~27 또는 108 중 어느 하나 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 조작된 아미노산 서열을 포함하는 엔도뉴클레아제를 제공한다.
- [0009] 일부 양태에서, 본 개시는 서열번호 109~110 중 어느 하나 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 조작된 아미노산 서열을 포함하는 엔도뉴클레아제를 제공한다.
- [0010] 일부 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 엔도뉴클레아제, 융합 엔도뉴클레아제, 또는 Cas 효소 중 어느 하나를 암호화하는 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 일부 양태에서, 서열은 숙주 세포에서의 발현에 대해 코돈 최적화된다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 원핵 세포, 진핵 세포, 포유동물, 또는 인간 세포이다.
- [0011] 일부 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 핵산 서열 중 어느 하나를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0012] 일부 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 벡터, 시스템, 또는 핵산 중 어느 하나를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 원핵 세포, 진핵 세포, 포유동물, 또는 인간 세포이다.
- [0013] 일부 양태에서, 본 개시는 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 시스템은: (a) 본원에 기술된 뉴클레아제, Cas 효소, 또는 융합 엔도뉴클레아제 중 어느 하나; 및 (b) 가이드 리보핵산을 포함하는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함하고, 여기서 가이드 리보핵산은 표적 테

옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성되고, 상기 가이드 리보핵산서열은 상기 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된다. 일부 구현예에서, 상기 가이드 리보핵산은 상기 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 tracr 리보핵산 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 미배양 미생물로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 Cas9 엔도뉴클레아제, Cas14 엔도뉴클레아제, Cas12a 엔도뉴클레아제, Cas12b 엔도뉴클레아제, Cas 12c 엔도뉴클레아제, Cas12d 엔도뉴클레아제, Cas12e 엔도뉴클레아제, Cas13a 엔도뉴클레아제, Cas13b 엔도뉴클레아제, Cas13c 엔도뉴클레아제, 또는 Cas13d 엔도뉴클레아제가 아니다. 일부 구현예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 SpyCas9 엔도뉴클레아제와 86% 미만의 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 시스템은 Mg²⁺의 소스를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 서열번호 8~12, 26~27, 또는 108 중 어느 하나 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 33, 34, 44, 45, 78, 84, 또는 87 중 어느 하나의 비축퇴 뉴클레오티드(non-degenerate nucleotides)와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0014] 일부 양태에서, 본 개시는 조작된 뉴클레아제를 제공하며, 상기 조작된 뉴클레아제는: (a) 서열번호 1~27, 108, 또는 109~110 중 어느 하나 또는 이의 변이체의 RuvC 또는 HNH 도메인과 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 클래스 II, II형 Cas 효소 RuvC 또는 HNH 도메인; 및 (b) 서열번호 1~27, 108, 또는 109~110 중 어느 하나 또는 이의 변이체의 PAM-상호작용(PI) 도메인과 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 클래스 II, II형 Cas 효소 PAM-상호작용(PI) 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, (a)와 (b)는 함께 자연적으로 발생하지 않는다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 II, II형 Cas 효소는 미배양 미생물로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 SpyCas9 엔도뉴클레아제와 86% 미만의 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 융합 엔도뉴클레아제는 서열번호 1~27 중 어느 하나 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0015] 일부 양태에서, 본 개시는 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 시스템은: (a) 본원에 기술된 뉴클레아제 중 어느 하나; 및 (b) 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함하고, 여기서 상기 엔도뉴클레아제는 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성되고 상기 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 가이드 리보핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 가이드 리보핵산은 상기 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 tracr 리보핵산 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 28~32 또는 33~44 중 어느 하나 또는 이의 변이체의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 시스템은 상기 표적 핵산 부위에 인접한 상기 뉴클레아제와 호환 가능한 PAM 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 PAM 서열은 상기 표적 데옥시리보핵산 서열의 3'에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 PAM 서열은 상기 표적 데옥시리보핵산 서열의 5'에 위치한다. 일부 구현예에서, 상기 PAM 서열은 서열번호 46~66 중 어느 하나를 포함한다.

[0016] 일부 양태에서, 본 개시는 알부민 유전자를 표적화하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 시스템 중 어느 하나를 세포에 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 67~86 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도

96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열에 혼성화되도록 구성된다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 핵산 또는 벡터와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 벡터 또는 핵산을 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 리보핵산단백질 복합체(RNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 RNP를 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0017]

일부 양태에서, 본 개시는 HA01 유전자 또는 유전자좌를 표적화하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 시스템 중 어느 하나를 세포에 도입하는 단계를 포함하되, 상기 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 611~633 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열에 혼성화되도록 구성된다. 일부 구현예에서, 상기 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 615, 618, 620, 624, 또는 626 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열에 혼성화되도록 구성된다. 일부 구현예에서, 상기 가이드 리보핵산은 서열번호 645~684 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 가이드 리보핵산은 서열번호 645~649, 652~656, 660~671, 674~675, 또는 681~684 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열, 또는 서열 번호 645~649, 652~656, 660~671, 674~675, 또는 681~684 중 어느 하나의 표적 서열과 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 핵산 또는 벡터와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 벡터 또는 핵산을 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 리보핵산단백질 복합체(RNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 RNP를 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0018]

일부 구현예에서, 본 개시는 세포에서 HA0-1 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 세포에: (a) 본원에 기술된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 HA0-1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 표적화 서열을 포함하고, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 611~626 또는 627~633과 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 표적 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일

성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 618, 620, 624, 또는 626 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열, 또는 서열 번호 618, 620, 624, 또는 626 중 어느 하나의 표적 서열과 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 9 또는 표 12의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포는 포유류 세포이다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 핵산 또는 벡터와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 벡터 또는 핵산을 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 리보핵산단백질 복합체(RNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 RNP를 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0019]

일부 양태에서, 본 개시는 세포에서 TRAC 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 세포에: (a) 본원에 기술된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRAC 유전자좌의 영역에 혼성화하도록 구성된 표적화 서열을 포함하고, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 139~158과 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 표적 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나; 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 119~138 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55% 동일성을 갖는 융합 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 121, 132, 136, 130, 134, 135, 또는 137 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열, 또는 서열번호 121, 132, 136, 130, 134, 135, 또는 137 중 어느 하나의 표적화 서열과 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7A의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 핵산 또는 벡터와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 벡터 또는 핵산을 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 리보핵산단백질 복합체(RNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 RNP를 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0020]

일부 구현예에서, 본 개시는 세포에서 B2M 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 세포에: (a) 본원에 기술된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 B2M 유전자좌의 영역에 혼성화하도록 구성된 표적화 서열을 포함하고, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 185~210과 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도

87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 표적 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나; 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 159~184 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 융합 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축된 뉴클레오티드와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 159, 165, 168, 174, 또는 184 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열, 또는 서열 번호 159, 165, 168, 174, 또는 184 중 어느 하나의 표적 서열과 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7B의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 핵산 또는 벡터와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 벡터 또는 핵산을 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 리보핵산단백질 복합체(RNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 RNP를 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0021]

일부 양태에서, 본 개시는 세포에서 TRBC1 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 세포에: (a) 본원에 기술된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRBC1 유전자좌의 영역에 혼성화하도록 구성된 표적화 서열을 포함하고, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 252~292와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 표적 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 211~251 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 융합 엔도뉴

클레아제를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열 번호 211, 212, 215, 241, 또는 242 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나, 서열번호 211, 212, 215, 241, 또는 242 중 어느 하나의 표적 서열과 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7C의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 핵산 또는 벡터와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 벡터 또는 핵산을 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 리보핵산단백질 복합체(RNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 RNP를 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0022]

일부 양태에서, 본 개시는 세포에서 TRBC2 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 세포에: (a) 본원에 기술된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRBC2 유전자좌의 영역에 혼성화하도록 구성된 표적화 서열을 포함하고, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 338-382와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 표적 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나; 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 293-337 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 중 어느 하나. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 융합 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 296, 306, 또는 332 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나, 서열 번호 296, 306, 또는 332 중 어느 하나의 표적 서열과 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 표적 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7C의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 핵산 또는 벡터와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 벡터 또는 핵산을 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 리보핵산단백질 복합체(RNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 RNP를 포함하는 지

질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0023]

일부 양태에서, 본 개시는 세포에서 ANGPTL3 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 세포에: (a) 본원에 기술된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 ANGPTL3 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 표적화 서열을 포함하고, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열 번호 478~572와 적어도 80% 동일성을 갖는 표적 서열과 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 383~477 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 융합 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 419, 425, 431, 439, 447, 453, 461, 467, 471, 또는 473 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열, 또는 서열 번호 419, 425, 431, 439, 447, 453, 461, 467, 471, 또는 473 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7D의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 핵산 또는 벡터와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 벡터 또는 핵산을 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 리보핵산단백질 복합체(RNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 RNP를 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0024]

일부 양태에서, 본 개시는 세포에서 PCSK9 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 세포에: (a) 본원에 기술된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 PCSK9 유전자좌의 영역에 혼성화하도록 구성된 표적화 서열을 포함하고, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 588~602와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 표적 서열에 혼성화되도록 구성되거나 이를 포함하거나; 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 573~587 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상

기 클래스 2, II 형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 융합 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축된 뉴클레오티드와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드는 서열번호 574, 578, 581, 또는 585 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7E의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 핵산 또는 벡터와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 벡터 또는 핵산을 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 리보핵산 단백질 복합체(RNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 RNP를 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0025]

일부 구현예에서, 본 개시는 세포에서 알부민 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 세포에: (a) 본원에 기술된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 알부민 유전자좌의 영역에 혼성화하도록 구성된 표적화 서열을 포함하고, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 67~86 또는 646~695 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 67~86 또는 646~695 중 어느 하나의 표적 서열과 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 표적 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 클래스 2, II 형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 융합 엔도뉴클레아제 또는 또는 조작된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 II형 Cas 엔도뉴클레아제 중 어느 하나를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 클래스 2, II 형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 10 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 융합 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 722의 비축된 뉴클레오티드와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 67, 68, 70, 71, 72, 76, 79, 80, 647, 648, 649, 653, 654, 655, 656, 673, 680, 681, 또는 682 중 어느 하나와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일성을 갖는 서열에 상보적이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 6의 가이드 RNA 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 핵산 또는 벡터와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 벡터 또는 핵산을 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 세포에 도입하는 단계는 상기 융합 단백질 또는 상기 가이드 폴리뉴클레오티드를 암호화하는 리보핵산단백질

복합체(RNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 추가로 포함하거나, 상기 RNP를 포함하는 지질 나노입자(LNP)와 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

- [0026] 일부 양태에서, 본 개시는 서열번호 1~27, 108, 또는 109~110 중 어느 하나와 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 조작된 아미노산 서열을 포함하는 엔도뉴클레아제를 제공한다.
- [0027] 일부 양태에서, 본 개시는 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 시스템은: 본원에 기술된 뉴클레아제; 및 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함하고, 여기서 엔도뉴클레아제는: 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 가이드 리보핵산 서열; 및 상기 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 tracr 리보핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 미배양 미생물로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 Cas9 엔도뉴클레아제, Cas14 엔도뉴클레아제, Cas12a 엔도뉴클레아제, Cas12b 엔도뉴클레아제, Cas 12c 엔도뉴클레아제, Cas12d 엔도뉴클레아제, Cas12e 엔도뉴클레아제, Cas13a 엔도뉴클레아제, Cas13b 엔도뉴클레아제, Cas13c 엔도뉴클레아제, 또는 Cas13d 엔도뉴클레아제가 아니다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 SpyCas9 엔도뉴클레아제와 86% 미만의 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, 시스템은 Mg^{2+} 의 소스를 추가로 포함한다.
- [0028] 일부 양태에서, 본 개시는 조작된 뉴클레아제를 제공하며, 상기 조작된 뉴클레아제는: (a) 서열번호 1~27, 108, 또는 109~110 중 어느 하나의 RuvC 및 HNH 도메인과 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 클래스 II, II형 Cas 효소 RuvC 및 HNH 도메인; 및 (b) 서열번호 1~27, 108, 또는 109~110 중 어느하나의 PAM 상호작용(PI) 도메인과 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 클래스 II, II형 Cas 효소 PAM-상호작용(PI) 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, (a)와 (b)는 함께 자연적으로 발생하지 않는다. 일부 구현예에서, 클래스 II, II형 Cas 효소는 미배양 미생물로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 SpyCas9 엔도뉴클레아제와 86% 미만의 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, 조작된 뉴클레아제는 서열번호 1~27 중 어느 하나와 적어도 55% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.
- [0029] 일부 양태에서, 본 개시는 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 시스템은: 본원에 기술된 양태 또는 구현예 중 어느 하나에 따른 엔도뉴클레아제; 및 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함하고, 여기서 엔도뉴클레아제는: 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 가이드 리보핵산 서열; 및 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 tracr 리보핵산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 28~32 또는 33~44 중 어느 하나 또는 이의 변이체의 비축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 시스템은 표적 핵산 부위에 인접한 뉴클레아제와 호환 가능한 PAM 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, PAM 서열은 표적 데옥시리보핵산 서열의 3'에 위치한다. 일부 구현예에서, PAM 서열은 서열번호 46~66 중 어느 하나를 포함한다.
- [0030] 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 양태 또는 구현예 중 어느 하나에 따른 클래스 II, II형 효소와 양립 가능한 조작된 단일 분자 이중 가이드 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 이중 가이드 폴리뉴클레오티드는 서열번호 645~684 중 어느 하나에 따른 화학적 변형을 포함한다.
- [0031] 일부 양태에서, 본 개시는 알부민 유전자를 표적화하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 양태 또는 구현예 중 어느 하나에 따른 시스템을 세포에 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 67~86 중 어느 하나를 포함하는 서열에 혼성화되도록 구성된다.
- [0032] 일부 양태에서, 본 개시는 HA01 유전자를 표적화하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 양태 또는 구현예 중 어느 하나에 따른 시스템을 세포에 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 611~633 중 어느 하나에 혼성화되도록 구성된다. 일부 구현예에서, 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 615, 618, 620, 624, 또는 626 중 어느 하나에 혼성화되도록 구성된다. 일부 구현예에서, 가이드 리보핵산은 서열번호 645~684 중 어느 하나에 따른 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 가이드 리보핵산은 서열번호 645~649, 652~656, 660~671, 674~675, 또는 681~684 중 어느 하나에 따른 서열을 포함한다.
- [0033] 일부 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 엔도뉴클레아제를 포함하는 세포를 제공한다. 일부 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 핵산 분자를 포함하는 세포를 제공한다. 일부 양태에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 조작된 뉴클레아제 시스템을 포함하는 세포를 제공한다.
- [0034] 본 개시의 추가 양태 및 이점은 다음의 상세한 설명으로부터 당업자에게 쉽게 명백해질 것이며, 여기서 본 개시의 예시적인 구현예만이 도시되고 설명된다. 인지하게 되겠지만, 본 개시는 다른 구현예 및 상이한 구현예가 가능하고, 본 개시의 몇몇 세부 사항은 다양한 명백한 측면에서 본 개시를 벗어나지 않고도 변형될 수 있다. 따라

서, 도면 및 본 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용은 본질적으로 예시적인 것으로 간주되어야 하며, 제한적인 것으로 간주되지 않아야 한다.

[0035] **참조에 의한 통합**

[0036] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허, 및 특허 출원은 마치 각각의 개별 간행물, 특허, 또는 특허 출원이 참조에 의해 구체적으로 및 개별적으로 통합된 것으로 표시된 것과 동일한 정도로 참조에 의해 본원에 통합된다.

도면의 간단한 설명

[0037] 본 발명의 신규한 특징은 특히 첨부된 청구범위에 명시되어 있다. 본 발명의 특징 및 장점은 본 발명의 원리가 활용되는 예시적인 구현예가 제시되는 하기 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용 및 첨부 도면(본원에서의 “도 (figure/FIG)”)을 참조함으로써 더 잘 이해될 것이다.

도 1a~1b는 본원에 기술된 다양한 작동자의 천연 PAM 특이성을 도시한다. **도 1a**는 본원에 기술된 다양한 작동자의 계통수를 보여준다. **도 1b**는 천연 RNA 가이드된 CRISPR-연관 엔도뉴클레아제의 PAM 특이성의 표이다. **도 1b**는 서열번호 46~59를 나타내는 순서대로 각각 개시한다.

도 2는 RNA 가이드된 CRISPR-연관 뉴클레아제 간의 도메인 스와핑의 개념을 보여준다.

도 3a 및 **도 3b**는 최적의 중단점의 결정을 가이드하는 다수의 서열의 정렬을 도시한다. **도 3a**는 본원에 기술된 여러 단백질에 정렬된 SaCas9 및 SpCas9를 보여주며, 이들 서열의 말단 보존된 잔기(알라닌 잔기)는 스와핑된 구간의 제안된 C-말단으로서 식별된다. **도 3b**는 RuvC-III, WED, TOPO, 및 CTD 도메인의 스와핑 대상 범위가 될 SaCas9 단백질의 C-말단 도메인을 도시한다. PAM 상호작용 도메인은 TOPO 도메인 및 CTD 도메인으로 구성된다. 활성 부위 잔기(RuvC 도메인의 D10, E477, 및 H701 및 NHN 도메인의 D556, D557, 및 N580)는 스와핑된 C-말단 도메인에 포함되지 않는다.

도 4는 시험관 내 PAM 농축 검정을 이용해 밀접하게 관련된 뉴클레아제 및 원위로 관련된 뉴클레아제 유래의 다양한 C-말단 도메인과 MG3-6이 재조합된 키메라를 스크리닝하는 것을 도시한 것이다. N-말단 부모 도메인 유래의 sgRNA를 RNA 가이드된 뉴클레아제 활성화에 사용하였다.

도 5a~5b는 PAM 서열(**도 5a**) 및 본원에 기술된 기능적 키메라 PAM 서열의 Seq 로고 도면(**도 5b**)을 도시한다. RuvC-III, WED, TOPO, 및 CTD의 예측된 C-말단 도메인의 중단점 스와핑을 감안하면, 키메라는 밀접하게 관련된 뉴클레아제와 재조합될 때 기능적이었다. 조작된 키메라는, 천연 단백질이 동일한 실험에서 기능적이지 않더라도, 천연 단백질의 PAM 상호작용 도메인의 PAM 특이성을 보존하는 경향이 있었다. **도 5a**는 서열번호 51, 60, 62, 51, 53, 62, 54, 54, 55, 및 55를 나타내는 순서대로 각각 개시한다.

도 6은 시험관 내 PAM 농축 검정을 이용해 밀접하게 관련된 뉴클레아제 및 원위로 관련된 뉴클레아제 유래의 다양한 C-말단 도메인과 MG3-6이 재조합된 키메라를 스크리닝하는 것을 도시한 것이다. C-말단 부모 도메인 유래의 sgRNA를 RNA 가이드된 뉴클레아제 활성화에 사용하였다. 괄호 안의 숫자는 sgRNA 종을 나타낸다. C-말단 부모 도메인 유래의 sgRNA를 사용하는 것이 활성을 구체하지는 않았다.

도 7은 MG3-6 및 MG15-1의 예측 구조를 보여준다. MG3-6의 WED 및 PI 도메인을 MG15-1의 대응 도메인들과 스와핑하여 키메라 1(C1)을 생성하였다. 대안적으로, MG3-6의 PI 도메인을 MG15-1의 대응 도메인과 스와핑하여 키메라 2(C2)를 생성하였다.

도 8a~8b는 시험관 내 PAM 농축 검정 및 PAM 특이성에 대한 생거 시퀀싱 결과를 도시한다. C1: MG3-6+MG15-1(WP) 및 C2: MG3-6+MG15-1(P). 조작된 키메라는 천연 단백질의 PAM 상호작용 도메인의 PAM 특이성을 보존하는 경향이 있다. PAM 농축 검정을 3회 수행하였다. **도 8a**는 활성 효소가 존재할 때 서열이 절단되었음을 나타내는, 검정의 아가로스 겔 도시를 보여주고, **도 8b**는 검정에 의해 결정된 PAM 서열의 SeqLogo 도시를 보여준다. **도 8b**는 "CNNCNA"를 서열번호 58로서 개시하고, "NNNCWAA"를 서열번호 66으로서 개시하고, "CNNCWAA"를 서열번호 65로서 개시한다.

도 9a~9b는 포유류 세포에서 본원에 기술된 키메라의 활성을 도시한다. 키메라에 대해 정렬된 mRNA를 20개의 상이한 sgRNA(예를 들어, 서열번호 67~86 참조)와 함께 Hepa 1~6 세포 내로 공동 형질감염시켰다. 편집은 생거 시퀀싱 및 CRISPR 편집의 추론(ICE)에 의해 평가하였다. **도 9a**는 시험한 가이드의 편집 효율을 도시한다. 2개의 생물학적 복제물이 도시되어 있다. **도 9b**는 대표적인 가이드에 의해 생성된 인텔 프로파일을 보여준다.

도 10은 Hepa1-6 세포에서 가이드 스크리닝의 결과를 도시하는데; 가이드는 리포펙타민 메신저 맥스

(lipofectamine Messenger Max)를 사용하여 mRNA 및 gRNA로서 전달되었다.

도 11a는 MG3-6/3-4 가이드의 구조적인 부분을 도시한다. 도 11a는 서열번호 734를 도시한다. 도 11b는 MG3-6 가이드의 구조적인 부분을 도시한다. 도 11b는 서열번호 734를 도시한다.

도 12는 화학적으로 변형된 MG3-6/3-4 가이드를 리포펙타민 메신저 맥스를 사용하여 mRNA 및 gRNA로서 전달했을 때, Hepa1-6 세포에서 이들의 활성을 도시한다.

도 13은 화학적으로 변형된 MG3-6/3-4 가이드의 37°C에서 9시간 동안의 안정성을 도시한다.

도 14는 화학적으로 변형된 MG3-6/3-4 가이드의 37°C에서 21시간 동안의 안정성을 도시한다.

도 15a~15b는 V-A형 키메라의 시험관 내 스크리닝을 도시한다. 도 15a는 각 절단 반응물별로 증폭시킨 절단 산물의 아가로오스 겔을 도시한다. 동일한 계열과 도메인이 스와핑된 MG29-1+MG29-5 키메라에서 양성 농후화가 관찰된다(괄호 안의 수는 sgRNA 종을 나타냄). 도 15b는 부모 효소 및 이로부터 유래된 키메라에 대한 PAM의 Seqlogo 도시를 보여준다.

도 16은 HEK293T 세포에서 TRAC에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 17은 HEK293T 세포에서 B2M에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 18은 HEK293T 세포에서 TRAC에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 및 표현형 수준으로 도시한다.

도 19는 HEK293T 세포에서 B2M에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 20은 T 세포에서 TRBC1 및 TRBC2에 대한 유전자 편집 결과를 표현형 수준으로 도시한다.

도 21은 Hep3B 세포에서 ANGPTL3에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 22는 Hep3B 세포에서 PCSK9에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 23은 차세대 시퀀싱에 의해 분석된, 야생형 마우스의 HAO-1 유전자좌에서 MG3-6/3-4에 의한 게놈 편집을 도시한다.

도 24는 MG3-6/3-4 mRNA 및 HAO-1 유전자를 표적으로 하는 가이드 RNA로 치료한 마우스의 간에서 글리콜레이트 산화효소 단백질 수준을 도시한다.

도 25는 MG3-6/3-4 mRNA 및 HAO-1 유전자를 표적으로 하되 4개의 상이한 화학적 변형을 갖는 가이드 RNA 7(G7)로 치료한 야생형 마우스의 HAO-1 유전자좌에서의 게놈 편집을 도시한다.

도 26은 MG3-6/3-4 mRNA 및 4개의 상이한 화학적 변형을 갖는 sgRNA 7(G7)이 캡슐화된 LNP로 치료한 후 11일차에 마우스의 간에서 글리콜레이트 산화효소(GO) 단백질 수준의 웨스턴 블롯 분석을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0038] **서열 목록에 대한 간단한 설명**
- [0039] 본원과 함께 출원된 서열 목록은 본 개시에 따른 방법, 조성물, 및 시스템에 사용하기 위한 예시적인 폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드 서열을 제공한다. 서열 목록 내 서열에 대한 예시적인 설명이 아래에 제시되어 있다.
- [0040] **MG3-6 키메라**
- [0041] 서열번호 1~27은 MG3-6 키메라 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 보여준다.
- [0042] 서열번호 108은 5' UTR, NLS, CDS, NLS, 3' UTR, 및 폴리A 꼬리를 함유하는 MG3-6/3-4 뉴클레아제의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.
- [0043] 서열번호 28~45 및 605~610은 MG3-6 키메라 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.
- [0044] 서열번호 46~59는 다양한 작동자의 천연 PAM 특이성을 보여준다.
- [0045] 서열번호 60~66은 본원에 기술된 키메라 뉴클레아제의 PAM 특이성을 보여준다.
- [0046] 서열번호 603은 MG3-6/3-4에 대한 DNA 코딩 서열을 보여준다.

- [0047] 서열번호 604는 MG3-6/3-4 카세트 코딩 서열의 단백질 서열을 보여준다.
- [0048] **MG29-1 키메라**
- [0049] 서열번호 109~110은 MG29-1 키메라 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 보여준다.
- [0050] 서열번호 111~113은 MG29-1 키메라 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.
- [0051] 서열번호 114~116은 다양한 작동자의 천연 PAM 특이성을 보여준다.
- [0052] 서열번호 117은 본원에 기술된 키메라 뉴클레아제의 PAM 특이성을 보여준다.
- [0053] **TRAC 표적화**
- [0054] 서열번호 119~138은 TRAC를 표적화하기 위해 MG3-6/3-4 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.
- [0055] 서열번호 139~158은 TRAC 표적 부위의 DNA 서열을 보여준다.
- [0056] **B2M 표적화**
- [0057] 서열번호 159~184는 B2M을 표적화하기 위해 MG3-6/3-4 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.
- [0058] 서열번호 185~210은 B2M 표적 부위의 DNA 서열을 보여준다.
- [0059] **TRBC1 표적화**
- [0060] 서열번호 211~251은 TRBC1을 표적화하기 위해 MG3-6/3-4 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.
- [0061] 서열번호 252~292는 TRBC1 표적 부위의 DNA 서열을 보여준다.
- [0062] **TRBC2 표적화**
- [0063] 서열번호 293~337은 TRBC2를 표적화하기 위해 MG3-6/3-4 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.
- [0064] 서열번호 339~382는 TRBC2 표적 부위의 DNA 서열을 보여준다.
- [0065] **ANGPTL3 표적화**
- [0066] 서열번호 383~477은 ANGPTL3을 표적화하기 위해 MG3-6/3-4 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.
- [0067] 서열번호 478~572는 ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열을 보여준다.
- [0068] **PCSK9 표적화**
- [0069] 서열번호 573~587은 PCSK9를 표적화하기 위해 MG3-6/3-4 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.
- [0070] 서열번호 588~602는 PCSK9 표적 부위의 DNA 서열을 보여준다.
- [0071] **발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**
- [0072] 본 발명의 다양한 구현예가 본원에 도시되고 기술되었지만, 이러한 구현예는 단지 예시로서 제공된다는 것은 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명을 벗어나지 않고도 많은 변이, 변화, 및 치환이 당업자에게 일어날 수 있다.. 본원에 기술된 본 발명의 구현예에 대한 다양한 대안이 사용될 수 있음을 이해해야 한다.
- [0073] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 개시된 일부 방법을 실시하는 데에는 면역학, 생화학, 화학, 분자 생물학, 미생물학, 세포 생물학, 계놈, 및 재조합 DNA의 기술이 사용된다. 예를 들어 Sambrook 및 Green, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th Edition (2012); the series Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel 등(eds.); the series Methods In Enzymology (Academic Press, Inc.), PCR 2: A Practical Approach (M.J. MacPherson, B.D. Hames 및 G.R. Taylor(eds.) (1995)), Harlow and Lane(eds.) (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, and Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and

Specialized Applications, 6th Edition (R.I. Freshney(ed.) (2010))을 참조한다(이들은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).

- [0074] 본원에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태(“a”, “an” 및 “the”)는 문맥상 달리 명시되지 않는 한, 복수 형태도 포함하도록 의도된다. 또한, 용어 “포함하는(including, includes, having, has, with)” 또는 이의 변형된 표현이 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용 또는 청구범위에 사용되는 정도까지, 이러한 용어는 용어 “포함하는(comprising)”과 유사한 방식으로 포괄적인 것으로 의도된다.
- [0075] 용어 “약” 또는 “대략”은 당업자에 의해 결정되는 특정 값에 대한 허용 가능한 오차 범위 내의 것을 의미하며, 이는 값이 측정되거나 결정되는 방법, 예를 들어 측정 시스템의 한계에 부분적으로 좌우될 것이다. 예를 들어, “약”은 당 기술분야의 관행에 따라 하나 또는 둘 이상의 표준 편차 이내를 의미할 수 있다. 대안적으로, “약”은 주어진 값의 최대 20%, 최대 15%, 최대 10%, 최대 5%, 또는 최대 1%의 범위를 의미할 수 있다.
- [0076] 본원에서 사용되는 바와 같이, “세포”는 일반적으로 생물학적 세포를 지칭한다. 세포는 살아있는 유기체의 기본 구조, 기능, 또는 생물학적 단위일 수 있다. 세포는 하나 이상의 세포를 갖는 임의의 유기체로부터 유래될 수 있다. 일부 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 원핵 세포, 진핵 세포, 박테리아 세포, 고세균 세포, 단세포 진핵생물의 세포, 원생동물 세포, 식물 유래의 세포(예를 들어, 식물 작물, 과일, 야채, 곡물, 대두, 옥수수(corn), 옥수수(maize), 밀, 씨앗, 토마토, 쌀, 카사바, 사탕수수, 호박, 건초, 감자, 면, 대마, 담배, 개화 식물, 침엽수, 겉씨식물, 양치류, 석송, 뿌리기류, 우산이끼, 이끼 유래의 세포), 해조류 세포(예를 들어, 보트리오크스 브라우니(Botryococcus braunii), 녹조류(Chlamydomonas reinhardtii), 클라미도모나스 라인하르트티, 나노클로롭시스 가디타나(Nannochloropsis gaditana), 클로렐라 피레노이도사(Chlorella pyrenoidosa), 쌍발아미모자반(Sargassum patens C. Agardh) 등), 해초(예: 켈프), 진균 세포(예를 들어, 효모 세포, 버섯 유래의 세포), 동물 세포, 무척추 동물(예를 들어, 초파리, 자포류, 극피동물, 선충 등) 유래의 세포, 척추동물(예를 들어, 생선, 양서류, 파충류, 새, 포유동물) 유래의 세포, 포유동물(예를 들어, 돼지, 젖소, 염소, 양, 설치류, 랫트, 마우스, 비인간 영장류, 인간 등) 유래의 세포, 등. 때로는, 세포는 천연 유기체로부터 유래되지 않는다(예를 들어, 세포는 합성으로 만들어질 수 있고, 이는 가끔 인공 세포라 불린다).
- [0077] 본원에서 사용되는 용어 “뉴클레오티드”는 일반적으로 염기-당-인산염의 조합을 지칭한다. 뉴클레오티드는 합성 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 뉴클레오티드는 합성 뉴클레오티드 유사체를 포함할 수 있다. 뉴클레오티드는 핵산 서열(예를 들어, 데옥시리보핵산(DNA) 및 리보핵산(RNA))의 단량체 단위일 수 있다. 뉴클레오티드라는 용어는 리보뉴클레오시드 삼인산, 아데노신 삼인산(ATP), 우리딘 삼인산(UTP), 시토신 삼인산(CTP), 구아노신 삼인산(GTP), 및 데옥시리보뉴클레오시드 삼인산, 예컨대 dATP, dCTP, dITP, dUTP, dGTP, dTTP, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. 이러한 유도체는, 예를 들어, [α S]dATP, 7-데아자-dGTP 및 7-데아자-dATP, 및 이를 함유하는 핵산 분자에 뉴클레아제 저항성을 부여하는 뉴클레오티드 유도체를 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 뉴클레오티드는 디데옥시리보뉴클레오시드 삼인산(ddNTP) 및 이들의 유도체를 지칭할 수 있다. 디데옥시리보뉴클레오시드 삼인산의 예시적인 예는 ddATP, ddCTP, ddGTP, ddITP, 및 ddTTP를 포함할 수 있지만, 이에 한정되지는 않는다. 뉴클레오티드는 표지되지 않거나, 예컨대 광학적으로 검출 가능한 모이어티(예를 들어, 형광단)를 포함하는 모이어티를 사용하여 검출 가능하게 표지될 수 있다. 표지화는 양자점(quantum dots)으로 수행될 수도 있다. 검출 가능한 표지는, 예를 들어, 방사성 동위원소, 형광 표지, 화학발광 표지, 생물발광 표지, 및 효소 표지를 포함할 수 있다. 뉴클레오티드의 형광 표지는 플루오레세인, 5-카르복시플루오레세인(FAM), 2' 7' -디메톡시-4' 5-디클로로-6-카르복시플루오레세인(JOE), 로다민, 6-카르복시로다민(R6G), N,N,N',N' -테트라메틸-6-카르복시로다민(TAMRA), 6-카르복시-X-로다민(ROX), 4-(4' 디메틸아미노페닐아조) 벤조산(DABCYL), 캐스케이드 블루(Cascade Blue), 오레곤 그린(Oregon Green), 텍사스 레드(Texas Red), 사아닌, 및 5-(2' -아미노에틸)아미노나프탈렌-1-설폰산(EDANS)를 포함할 수 있지만 이에 한정되지는 않는다. 형광 표지된 뉴클레오티드의 특정 예는 다음을 포함할 수 있다: Perkin Elmer(Foster City, Calif)로부터 입수할 수 있는 [R6G]dUTP, [TAMRA]dUTP, [R110]dCTP, [R6G]dCTP, [TAMRA]dCTP, [JOE]ddATP, [R6G]ddATP, [FAM]ddCTP, [R110]ddCTP, [TAMRA]ddGTP, [ROX]ddTTP, [dR6G]ddATP, [dR110]ddCTP, [dTAMRA]ddGTP, 및 [dROX]ddTTP; Amersham(Arlington Heights, Ill.)으로부터 입수할 수 있는 FluoroLink 데옥시뉴클레오티드, FluoroLink Cy3-dCTP, FluoroLink Cy5-dCTP, FluoroLink 플루오르 X-dCTP, FluoroLink Cy3-dUTP, 및 FluoroLink Cy5-dUTP; Boehringer Mannheim(Indianapolis, Ind.)으로부터 입수할 수 있는 플루오레세인-15-dATP, 플루오레세인-12-dUTP, 테트라메틸-로다민-6-dUTP, IR770-9-dATP, 플루오레세인-12-ddUTP, 플루오레세인-12-UTP, 및 플루오레세인-15-2' -dATP; 및 Molecular Probes(Eugene, Oreg.)로부터 입수할 수 있는 염색체 표지된 뉴클레오티드, BODIPY-FL-14-UTP, BODIPY-FL-4-UTP, BODIPY-TMR-14-UTP, BODIPY-TMR-14-dUTP, BODIPY-TR-14-UTP, BODIPY-TR-

14-dUTP, 캐스케이드 블루-7-UTP, 캐스케이드 블루-7-dUTP, 플루오레세인-12-UTP, 플루오레세인-12-dUTP, 옐론 그린 488-5-dUTP, 로다민 그린-5-UTP, 로다민 그린-5-dUTP, 테트라메틸로다민-6-UTP, 테트라메틸로다민-6-dUTP, 텍사스 레드-5-UTP, 텍사스 레드-5-dUTP, 및 텍사스 레드-12-dUTP. 뉴클레오티드는 화학적 변형에 의해 표지되거나 표시될 수도 있다. 화학적으로 변형된 단일 뉴클레오티드는 비오틴-dNTP일 수 있다. 비오틴화된 dNTP의 일부 비제한적인 예는 다음을 포함할 수 있다: 비오틴-dATP(예를 들어, 비오-N6-ddATP, 비오틴-14-dATP), 비오틴-dCTP(예를 들어, 비오틴-11-dCTP, 비오틴-14-dCTP), 및 비오틴-dUTP(예를 들어, 비오틴-11-dUTP, 비오틴-16-dUTP, 비오틴-20-dUTP).

[0078] 용어 “폴리뉴클레오티드”, “올리고뉴클레오티드”, 및 “핵산”은 일반적으로 임의의 길이를 가진 뉴클레오티드의 중합체 형태를 지칭하도록 사용 교환적으로 사용되며, 상기 뉴클레오티드는 단일 가닥, 이중 가닥, 또는 다중 가닥의 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드이거나, 이의 유사체일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 세포에 대해 외인성이거나 내인성일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 무세포 환경에서 존재할 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 유전자이거나 이의 단편일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 DNA일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 RNA일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 임의의 3차원 구조를 가질 수 있고 임의의 기능을 수행할 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 유사체(예를 들어, 백본, 당, 또는 핵염기가 변경된 유사체)를 포함할 수 있다. 존재하는 경우, 뉴클레오티드 구조에 대한 변형은 중합체의 조립 전 또는 후에 부여될 수 있다. 유사체의 일부 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 5-브로모우라실, 펩티드 핵산, 제노 핵산(xeno nucleic acid), 모르폴리노, 잠금 핵산, 글리콜 핵산, 트레오스 핵산, 디데옥시뉴클레오티드, 코르디세핀, 7-테아자-GTP, 형광단 (예를 들어, 당류에 연결된 로다민 또는 플루오레세인), 티올 함유 뉴클레오티드, 비오틴 연결된 뉴클레오티드, 형광 염기 유사체, CpG 섬, 메틸-7-구아노신, 메틸화된 뉴클레오티드, 이노신, 티오우리딘, 슈도우리딘, 디하이드로우리딘, 큐오신, 및 와이오신. 폴리뉴클레오티드의 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 유전자 또는 유전자 단편의 코딩 또는 비-코딩 영역, 연결 분석으로부터 정의된 유전자좌/유전자좌들, 엑손, 인트론, 메신저 RNA(mRNA), 전달 RNA(tRNA), 리보솜 RNA(rRNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 마이크로-RNA(miRNA), 리보자임, cDNA, 재조합 폴리뉴클레오티드, 분지형 폴리뉴클레오티드, 플라스미드, 벡터, 임의의 서열의 단리된 DNA, 임의의 서열의 단리된 RNA, 무세포 DNA(cfDNA) 및 무세포 RNA(cfRNA)를 포함하는 무세포 폴리뉴클레오티드, 핵산 프로브, 및 프라이머. 뉴클레오티드의 서열은 비-뉴클레오티드 성분에 의해 중단될 수 있다.

[0079] 용어 “형질감염(transfection 또는 transfected)”은 일반적으로 비-바이러스적인 방법 또는 바이러스-기반 방법에 의해 핵산을 세포 내로 도입하는 것을 지칭한다. 핵산 분자는 완전한 단백질 또는 이의 기능적 부분을 암호화하는 유전자 서열일 수 있다. 예를 들어, Sambrook 등의 문헌[1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 18.1-18.88] 참조.

[0080] 용어 “펩티드”, “폴리펩티드”, 및 “단백질”은 일반적으로 펩티드 결합(들)에 의해 결합된 적어도 2개의 아미노산 잔기로 이루어진 중합체를 지칭하도록 본원에서 상호 교환적으로 사용된다. 이 용어는 중합체의 특정 길이를 의미하지 않으며, 펩티드가 재조합 기술, 화학적 또는 효소적 합성을 사용해 생산되는지 또는 자연적으로 발생하는지를 암시하거나 구별하도록 의도되지도 않는다. 상기 용어는 자연적으로 발생하는 아미노산 중합체 뿐만 아니라 적어도 하나의 변형된 아미노산을 포함하는 아미노산 중합체에도 적용된다. 일부 경우에, 중합체는 비-아미노산에 의해 중단될 수 있다. 상기 용어는 전장 단백질을 포함하는 임의의 길이의 아미노산 사슬, 및 2차 또는 3차 구조(예를 들어, 도메인)가 있거나 없는 단백질을 포함한다. 상기 용어는 예를 들어, 이황화 결합 형성, 당질화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 산화, 및 표지 성분과의 접합과 같은 임의의 다른 조작에 의해 변형된 아미노산 중합체도 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 “아미노산(들)”은, 변형된 아미노산 및 아미노산 유사체를 포함하되 이에 한정되지 않는, 천연 및 비-천연 아미노산을 일반적으로 지칭한다. 변형된 아미노산은, 아미노산 상에는 자연적으로 존재하지 않는 기 또는 화학적 모이어티를 포함하도록 화학적으로 변형된 천연 아미노산 및 비-천연 아미노산을 포함할 수 있다. 아미노산 유사체는 아미노산 유도체를 지칭할 수 있다. 용어 “아미노산”은 D-아미노산 및 L-아미노산 둘 다를 포함한다.

[0081] 본원에서 사용되는 바와 같이, “비-고유(non-native)”는 고유 핵산 또는 단백질에서 발견되지 않는 핵산 또는 폴리펩티드 서열을 일반적으로 지칭할 수 있다. 비-고유는 친화도 태그를 지칭할 수 있다. 비-고유는 융합을 지칭할 수 있다. 비-고유는 돌연변이, 삽입, 또는 결실을 포함하는 자연 발생 핵산 또는 폴리펩티드 서열을 지칭할 수 있다. 비-고유 서열은 비-고유 서열이 융합되는 핵산 또는 폴리펩티드 서열에 의해서도 나타날 수 있는 활성(예를 들어, 효소 활성, 금속전이효소 활성, 아세틸전이효소 활성, 키나아제 활성, 유비퀴틴화 활성 등)을 나타내거나 이를 암호화할 수 있다. 비-고유 핵산 또는 폴리펩티드 서열은 유전자 조작에 의해 자연 발생 핵산

또는 폴리펩티드 서열(또는 이의 변이체)에 연결되어 키메라 핵산 또는 폴리펩티드를 암호화하는 키메라 핵산 또는 폴리펩티드 서열을 생성할 수 있다.

- [0082] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “프로모터”는, 유전자의 전사 또는 발현을 조절하고 RNA 전사가 개시되는 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드의 영역에 인접하게 위치하거나 이와 중첩될 수 있는 조절 DNA 영역을 일반적으로 지칭한다. 프로모터는 종종 전사 인자로서 지칭되는 단백질 인자에 결합하는 특이적 DNA 서열을 함유할 수 있는데, 상기 인자는 RNA 중합효소가 DNA에 결합하는 것을 용이하게 하여 유전자 전사를 유도한다. ‘코어 프로모터’로도 지칭되는 ‘기저 프로모터(basal promoter)’는 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드의 전사 발현을 촉진하는 모든 기본 요소를 함유하는 프로모터를 일반적으로 지칭할 수 있다. 진핵생물 기저 프로모터는, 일부 경우에, TATA-박스 또는 CAAT 박스를 포함한다.
- [0083] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “발현”은 핵산 서열 또는 폴리뉴클레오티드가 DNA 템플릿으로부터 (예컨대 mRNA 또는 다른 RNA 전사체로) 전사되는 공정 또는 전사된 mRNA가 후속하여 펩티드, 폴리펩티드, 또는 단백질로 번역되는 공정을 일반적으로 지칭한다. 전사체 및 암호화된 폴리펩티드는 “유전자 산물”로서 통칭될 수 있다. 폴리뉴클레오티드가 게놈 DNA로부터 유래되는 경우, 발현은 진핵 세포에서 mRNA의 스플라이싱을 포함할 수 있다.
- [0084] 본원에서 사용되는 바와 같이, “작동 가능하게 연결된(operably linked, operable linkage, operatively linked)” 또는 이와 문법적으로 동등한 표현은 유전자 요소, 예를 들어, 프로모터, 인핸서, 폴리아데닐화 서열 등의 병치를 일반적으로 지칭하는데, 여기서 요소들은 이들이 예상된 방식으로 작동하도록 허용하는 관계에 있다. 예를 들어, 프로모터 또는 인핸서 서열을 포함할 수 있는 조절 요소가 코딩 서열의 전사 개시에 도움을 주는 경우, 조절 요소는 코딩 영역에 작동 가능하게 연결된다. 이러한 기능적 관계가 유지되는 한, 조절 요소와 코딩 영역 사이에 개재 잔기가 있을 수 있다.
- [0085] 본원에서 사용되는 바와 같이, “벡터”는 일반적으로 폴리뉴클레오티드를 포함하거나 폴리뉴클레오티드와 결합하고 폴리뉴클레오티드를 세포로 전달하는 것을 매개하는데 사용될 수 있는 거대분자 또는 거대분자의 회합(association)을 지칭한다. 벡터의 예는 플라스미드, 바이러스 벡터, 리포솜, 및 기타 유전자 전달 비히클을 포함한다. 벡터는 유전자에 작동 가능하게 연결되어 표적에서 유전자의 발현을 용이하게 하는 유전자 요소, 예를 들어 조절 요소를 일반적으로 포함한다.
- [0086] 본원에서 사용되는 바와 같이, “발현 카세트” 및 “핵산 카세트”는 함께 발현되거나 발현을 위해 작동 가능하게 연결된 핵산 서열 또는 요소의 조합을 지칭하기 위해 일반적으로 상호 교환적으로 사용된다. 일부 경우에, 발현 카세트는 조절 요소와 발현을 위해 조절 요소가 작동 가능하게 연결되는 유전자(들)의 조합을 지칭한다.
- [0087] DNA 또는 단백질 서열의 “기능적 단편”은 전장 DNA 또는 단백질 서열의 생물학적 활성과 실질적으로 유사한 생물학적 활성(기능적 또는 구조적 활성)을 보유하는 단편을 일반적으로 지칭한다. DNA 서열의 생물학적 활성은 전장 서열에 기인한 방식으로 발현에 영향을 미치는 이의 능력일 수 있다.
- [0088] 본원에서 사용되는 바와 같이, “조작된” 객체란 객체가 인간 개입에 의해 변형되었음을 일반적으로 나타낸다. 비제한적인 실시예에 따르면: 핵산은 이의 서열을 자연에서 발생하지 않는 서열로 변경함으로써 변형될 수 있고; 핵산은 이 핵산을 자연에서 연관되지 않는 핵산과 결합시키되, 결합 산물이 원래 핵산에 존재하지 않는 기능을 갖도록 결합시킴으로써 변형될 수 있고; 조작된 핵산은 자연에서 존재하지 않는 서열을 이용해 시험관 내에서 합성될 수 있고; 단백질은 이의 아미노산 서열을 자연에서 존재하지 않는 서열과 치환함으로써 변형될 수 있고; 조작된 단백질은 새로운 기능 또는 특성을 획득할 수 있다. “조작된” 시스템은 적어도 하나의 조작된 구성요소를 포함한다.
- [0089] 본원에서 사용되는 바와 같이, “합성” 및 “인공”은 자연 발생 인간 단백질과 낮은 서열 동일성(예를 들어, 50% 미만의 서열 동일성, 25% 미만의 서열 동일성, 10% 미만의 서열 동일성, 5% 미만의 서열 동일성, 1% 미만의 서열 동일성)을 갖는 단백질 또는 이의 도메인을 지칭하도록 상호 교환적으로 사용된다. 예를 들어, VPR 및 VP64 도메인은 합성 전사 활성화 도메인이다.
- [0090] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “tracrRNA” 또는 “tracr 서열”은 야생형 예시적인 tracrRNA 서열(예를 들어 화농성연쇄상구균, 황색포도상구균 등 유래의 tracrRNA, 또는 서열번호 *~*)과 적어도 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 100% 서열 동일성 또는 서열 유사성을 갖는 핵산을 일반적으로 지칭할 수 있다. tracrRNA는 야생형 예시적인 tracrRNA 서열(예를 들어 화농성연쇄상구균, 황색포도상구균 등 유래의 tracrRNA)과 최대 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 100% 서열 동일성 또는

서열 유사성을 갖는 핵산을 일반적으로 지칭할 수 있다. tracrRNA는 tracrRNA의 변형된 형태로서, 결실, 삽입, 또는 치환과 같은 뉴클레오티드 변화, 변이체, 돌연변이, 또는 키메라를 포함할 수 있는 형태를 지칭할 수 있다. tracrRNA는 적어도 6개의 연속 뉴클레오티드의 길이에 걸쳐 야생형 예시적인 tracrRNA(예를 들어, 화농성 연쇄상구균, 황색포도상구균 등의 tracrRNA) 서열과 적어도 약 60% 동일할 수 있는 핵산을 지칭할 수 있다. 예를 들어, tracrRNA 서열은 적어도 6개의 연속 뉴클레오티드의 길이에 걸쳐 야생형 예시적인 tracrRNA(예를 들어, 화농성연쇄상구균, 황색포도상구균 등의 tracrRNA) 서열과 적어도 약 60% 동일하거나, 적어도 약 65% 동일하거나, 적어도 약 70% 동일하거나, 적어도 약 75% 동일하거나, 적어도 약 80% 동일하거나, 적어도 약 85% 동일하거나, 적어도 약 90% 동일하거나, 적어도 약 95% 동일하거나, 적어도 약 98% 동일하거나, 적어도 약 99% 동일하거나, 적어도 약 100% 동일할 수 있다. II형 tracrRNA 서열은 인접한 CRISPR 어레이에서 반복 서열의 일부와 상보성을 갖는 영역을 식별함으로써 게놈 서열 상에서 예측될 수 있다.

[0091] 본원에서 사용되는 바와 같이, “가이드 핵산”은 다른 핵산에 혼성화될 수 있는 핵산을 일반적으로 지칭할 수 있다. 가이드 핵산은 RNA일 수 있다. 가이드 핵산은 DNA일 수 있다. 가이드 핵산은 핵산의 서열에 부위 특이적으로 결합하도록 프로그래밍될 수 있다. 표적화될 핵산 또는 표적 핵산은 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 가이드 핵산은 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 표적 핵산의 일부는 가이드 핵산의 일부에 상보적일 수 있다. 가이드 핵산에 상보적이고 가이드 핵산과 혼성화되는 이중-가닥 표적 폴리뉴클레오티드의 가닥은 상보적 가닥으로 지칭될 수 있다. 상보적 가닥에 상보적이고, 따라서 가이드 핵산에 상보적이 아닐 수 있는 이중 가닥 표적 폴리뉴클레오티드의 가닥은 비상보적 가닥으로 지칭될 수 있다. 가이드 핵산은 하나의 폴리뉴클레오티드 사슬을 포함할 수 있고 “단일 가이드 핵산”으로 지칭될 수 있다. 가이드 핵산은 2개의 폴리뉴클레오티드 사슬을 포함할 수 있고 “이중 가이드 핵산”으로 지칭될 수 있다. 달리 명칭되지 않는 경우, 용어 “가이드 핵산”은 단일 가이드 핵산 및 이중 가이드 핵산 둘 다를 포함할 수 있고, 둘 다를 지칭할 수 있다. 가이드 핵산은 “핵산-표적화 분절” 또는 “핵산-표적화 서열”로서 지칭될 수 있는 분절을 포함할 수 있다. 핵산-표적화 분절은 “단백질 결합 분절” 또는 “단백질 결합 서열” 또는 “Cas 단백질 결합 분절”로서 지칭될 수 있는 하위 분절을 포함할 수 있다.

[0092] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 맥락에서의 용어 “서열 동일성” 또는 “동일성 백분율”은, 서열 비교 알고리즘을 사용해 측정했을 때, 부분적 또는 전체 비교 윈도우에 걸쳐 비교하고 최대 상응에 정렬했을 때 동일한 2개(예: 쌍으로 정렬했을 때) 또는 그 이상(예: 다수의 서열을 정렬했을 때)의 서열; 또는 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드의 특정 백분율을 갖는 2개(예: 쌍으로 정렬했을 때) 또는 그 이상(예: 다수의 서열을 정렬했을 때)의 서열을 일반적으로 지칭한다. 폴리펩티드 서열에 대한 적절한 서열 비교 알고리즘은 예를 들어 다음을 포함한다: 단어 길이(W) 3, 기대치(E) 10의 파라미터, 및 BLOSUM62 스코어링 매트릭스(존재 11, 연장 1의 갭 비용 설정)를 사용하고, 30개 잔기를 초과하는 길이의 폴리펩티드 서열에 대해서는 조건부 조성 스코어 매트릭스 조정(conditional compositional score matrix)을 사용하는 BLASTP; 단어 길이(W) 2, 기대치(E) 1000000의 파라미터, 및 30개 잔기 미만의 서열에 대해서는 PAM30 스코어링 매트릭스(개방 갭 9, 연장 갭 1의 갭 비용 설정 - 이들은 <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>에서 이용할 수 있는 BLAST 세트 중 BLASTP에 대한 디폴트 파라미터임)를 사용하는 BLASTP; CLUSTALW; 일치 2, 불일치 -1, 및 갭 -1의 파라미터를 사용하는 Smith-Waterman 상동성 검색 알고리즘; 디폴트 파라미터를 사용하는 MUSCLE; retree 2 및 최대 반복 1000의 파라미터를 사용하는 MAFFT; 디폴트 파라미터를 사용하는 Novafold; 디폴트 파라미터를 사용하는 HMMER hmmlalign.

[0093] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “RuvC_III 도메인”은 RuvC 엔도뉴클레아제 도메인의 세 번째 불연속 분절을 일반적으로 지칭한다(RuvC 뉴클레아제 도메인은 3개의 불연속 분절 RuvC_I, RuvC_II, 및 RuvC_III으로 구성됨). RuvC 도메인 또는 이의 분절은 문서화된 도메인 서열에 대한 정렬, 주석이 달린 도메인을 가진 단백질에 대한 구조 정렬, 또는 문서화된 도메인 서열(예를 들어, RuvC_III의 경우 Pfam HMM PF18541)에 기초하여 구축된 히든 마르코프 모델(Hidden Markov Models, HMM)과의 비교에 의해 일반적으로 식별될 수 있다.

[0094] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “웨지”(WED) 도메인은 sgRNA 및 PAM 이중체의 반복:반-반복 이중체와 일차적으로 상호작용하는 도메인(예를 들어, Cas 단백질에 존재하는 도메인)을 일반적으로 지칭한다. WED 도메인은 문서화된 도메인 서열에 대한 정렬, 주석이 달린 도메인을 가진 단백질에 대한 구조 정렬, 또는 문서화된 도메인 서열에 기초하여 구축된 히든 마르코프 모델(HMM)과의 비교에 의해 일반적으로 식별될 수 있다.

[0095] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “PAM 상호작용 도메인” 또는 “PI 도메인”은 Cas 단백질에 의해 표적화된 영역 내 시드 서열의 외부에 있는 프로토스페이스-인접 모티프(PAM)와 상호작용하는 도메인을 일반적으로 지칭한다. PAM-상호작용 도메인의 예는 Cas 단백질에 존재하는 국소이성화효소-상동성(TOPO) 도메인 및 C-말단 도메인(CTD)을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. PAM 상호작용 도메인 또는 이의 분절은 문서화된 도메인 서열

에 대한 정렬, 주석이 달린 도메인을 가진 단백질에 대한 구조 정렬, 또는 문서화된 도메인 서열에 기초하여 구축된 히든 마르코프 모델(HMM)과의 비교에 의해 일반적으로 식별될 수 있다.

- [0096] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “REC 도메인”은 가이드 RNA와 접촉하는 것으로 여겨지는 알파 나선 도메인인 2개의 분절(REC1 또는 REC2) 중 적어도 하나를 포함하는 도메인(예를 들어, Cas 단백질에 존재하는 도메인)을 일반적으로 지칭한다. REC 도메인 또는 이의 분절은 문서화된 도메인 서열에 대한 정렬, 주석이 달린 도메인을 가진 단백질에 대한 구조 정렬, 또는 문서화된 도메인 서열(예를 들어, 도메인 REC1의 경우 Pfam PF19501)에 기초하여 구축된 히든 마르코프 모델(HMM)과의 비교에 의해 일반적으로 식별될 수 있다.
- [0097] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “BH 도메인”은 II형 Cas 효소의 NUC 엽과 REC 엽 사이의 브릿지 나선인 도메인(예를 들어, Cas 단백질에 존재하는 도메인)을 일반적으로 지칭한다. BH 도메인 또는 이의 분절은 문서화된 도메인 서열에 대한 정렬, 주석이 달린 도메인을 가진 단백질에 대한 구조 정렬, 또는 문서화된 도메인 서열(예를 들어, 도메인 BH의 경우 Pfam PF16593)에 기초하여 구축된 히든 마르코프 모델(HMM)과의 비교에 의해 일반적으로 식별될 수 있다.
- [0098] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “HNH 도메인”은 특징적인 히스티딘 및 아스파라긴 잔기를 갖는 엔도뉴클레아제 도메인을 일반적으로 지칭한다. HNH 도메인은 문서화된 도메인 서열에 대한 정렬, 주석이 달린 도메인을 가진 단백질에 대한 구조 정렬, 또는 문서화된 도메인 서열(예를 들어, 도메인 HNH의 경우 Pfam HMM PF01844)에 기초하여 구축된 히든 마르코프 모델(HMM)과의 비교에 의해 일반적으로 식별될 수 있다.
- [0099] 하나 이상의 보존적 아미노산 치환을 갖는 본원에 기술된 효소 중 어느 하나의 변이체가 본 개시에 포함된다. 이러한 보존적 치환은 폴리펩티드의 3차원 구조 또는 기능을 파괴하지 않고도 폴리펩티드의 아미노산 서열에서 이루어질 수 있다. 보존적 치환은 소수성, 극성, 및 R 사슬 길이가 서로 유사한 아미노산들을 치환함으로써 달성될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 상이한 종의 상동성 단백질의 정렬된 서열을 비교함으로써, 종들 간에 돌연변이된 아미노산 잔기(예를 들어, 암호화된 단백질의 기본 기능을 변경시키지 않은 비보존적 잔기)를 위치시킴으로써 보존적 치환을 식별할 수 있다. 이러한 보존적으로 치환된 변이체는 본원에 기술된 시스템 중 어느 하나와 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 변이체를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 이러한 보존적으로 치환된 변이체는 기능적 변이체이다. 이러한 기능적 변이체는 엔도뉴클레아제의 중요한 활성 부위 잔기의 활성이 파괴되지 않도록 치환된 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 시스템 중 어느 하나의 기능적 변이체는 본원에 기술된 보존된 잔기 또는 기능적 잔기 중 적어도 하나의 치환이 결여되어 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 시스템 중 어느 하나의 기능적 변이체는 본원에 기술된 보존된 잔기 또는 기능적 잔기 모두의 치환이 결여되어 있다.
- [0100] 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표는 다양한 참조 문헌을 통해 이용할 수 있다(예를 들어, Creighton의 문헌[Proteins: Structures and Molecular Properties (W H Freeman & Co.; 2nd Edition (1993년 12월))] 참조). 다음의 8개의 기는 서로에 대해 보존적 치환인 아미노산을 각각 함유한다:
 - [0101] a. 알라닌 (A), 글리신 (G);
 - [0102] b. 아스파르트산 (D), 글루탐산 (E);
 - [0103] c. 아스파라긴 (N), 글루타민 (Q);
 - [0104] d. 아르기닌 (R), 리신 (K);
 - [0105] e. 이소류신 (I), 류신 (L), 메티오닌 (M), 발린 (V);
 - [0106] f. 페닐알라닌 (F), 티로신 (Y), 트립토판 (W);
 - [0107] g. 세린 (S), 트레오닌 (T); 및
 - [0108] h. 시스테인 (C), 메티오닌 (M).
- [0109] 개요
- [0110] 독특한 기능 및 구조를 갖는 새로운 Cas 효소의 발견은 테옥시리보핵산(DNA)을 추가로 파괴할 수 있는 편집 기

술을 제공함으로써, 속도, 특이성, 기능, 및 사용 편의성을 개선할 수 있다. 미생물에서 CRISPR 시스템의 예측 유병률 및 미생물 종의 순수한 다양성과 관련하여, 기능적으로 특성화된 CRISPR/Cas 효소는 문헌에 상대적으로 거의 존재하지 않는다. 이는 부분적으로는 많은 수의 미생물 종이 실험실 조건에서 쉽게 배양되지 않을 수 있기 때문이다. 많은 수의 미생물 종을 나타내는 자연 환경 적소로부터의 메타게놈 시퀀싱은 문서화된 새로운 CRISPR/Cas 시스템의 수를 극적으로 증가시키고 새로운 올리고뉴클레오타이드 편집 기능의 발견을 가속화할 수 있는 가능성을 제공할 수 있다. 이러한 접근법의 결실에 대한 최근의 예는 2016년에 천연 미생물 군집의 메타게놈 분석에서 CasX/CasY CRISPR 시스템을 발견한 것에 의해 입증된다.

- [0111] CRISPR/Cas 시스템은 미생물에서 적응성 면역 체계로서 기능하는 것으로 기술된 RNA-지향성 뉴클레아제 복합체이다. 이들의 자연적인 맥락에서, CRISPR/Cas 시스템은 CRISPR(일정한 간격을 두고 주기적으로 분포하는 짧은 회문 반복서열) 오픈론 또는 유전자좌에서 발생하며, 이는 일반적으로 2개의 부분을 포함한다: (i) RNA-기반 표적화 요소를 암호화하는, 동일하게 짧은 스페이서 서열에 의해 분리된 짧은 반복 서열(30~40 bp)의 어레이; 및 (ii) 부속 단백질/효소와 함께 RNA-기반 표적화 요소가 지향하는 뉴클레아제 폴리펩티드를 암호화하는 Cas를 암호화하는 ORF. 특정 표적 핵산 서열의 효율적인 뉴클레아제 표적화는 일반적으로 다음 두 가지 모두를 필요로 한다: (i) 표적의 첫 6~8개의 핵산(표적 시드)과 crRNA 가이드 사이의 상보적 혼성화; 및 (ii) 표적 시드의 정의된 근위 이내에 프로토스페이서-인접 모티프(PAM) 서열의 존재(PAM은 일반적으로 숙주 게놈 내에서 흔히 나타나지 않는 서열임). 시스템의 정확한 기능 및 구성에 따라, CRISPR-Cas 시스템은 공통의 기능적 특성 및 진화적 유사성을 기반으로 일반적으로 2개의 클래스, 5개의 유형, 및 16개의 하위 유형으로 구성된다.
- [0112] 클래스 I CRISPR-Cas 시스템은 큰 다중 서브유닛 작동자 복합체를 가지며, I형, III형, 및 IV형을 포함한다.
- [0113] I형 CRISPR-Cas 시스템은 구성요소의 측면에서 복잡성이 보통인 것으로 간주된다. I형 CRISPR-Cas 시스템에서, RNA-표적화 요소의 어레이는 긴 전구체 crRNA(pre-crRNA)로서 전사되고, 이는 반복 요소에서 가공되어 짧고 성숙한 crRNA를 유리시키는데, 이는 프로토스페이서-인접 모티프(PAM)로 불리는 적절한 짧은 컨센서스 서열이 뒤에 이어질 때 뉴클레아제 복합체를 핵산 표적에 대해 유도한다. 이러한 가공은 캐스케이드(Cascade)로 불리는 큰 엔도뉴클레아제 복합체의 엔도리보뉴클레아제 서브유닛(Cas6)을 통해 이루어지는데, 이는 crRNA-지향성 뉴클레아제 복합체의 뉴클레아제(Cas3) 단백질 성분도 포함한다. Cas I 뉴클레아제는 주로 DNA 뉴클레아제로서 기능한다.
- [0114] III형 CRISPR 시스템은 Csm 또는 Cmr 단백질 서브유닛을 포함하는 반복체-결합된 신비한 단백질(RAMP)과 함께 Cas10으로 알려진 중심 뉴클레아제의 존재를 특징으로 할 수 있다. I형 시스템에서와 같이, 성숙한 crRNA는 Cas6-유사 효소를 사용하여 pre-crRNA로부터 가공된다. I형 및 II형 시스템과 달리, III형 시스템은 DNA-RNA 이중체(예컨대, RNA 중합효소에 대한 템플릿으로서 사용되는 DNA 가닥)를 표적화하고 절단하는 것으로 보인다.
- [0115] IV형 CRISPR-Cas 시스템은 고도로 감소된 큰 서브유닛 뉴클레아제(csf1), Cas5(csf3) 및 Cas7(csf2)군으로 이루어진 RAMP 단백질에 대한 2개의 유전자, 및 일부 경우에, 예측된 작은 서브유닛에 대한 유전자로 이루어진 작동자 복합체를 가지는데; 이러한 시스템은 내인성 플라스미드 상에서 흔히 발견된다.
- [0116] II형 CRISPR-Cas 시스템은 단일-폴리펩티드 다중도메인 뉴클레아제 작동자를 일반적으로 가지며, II형, V형, 및 VI형을 포함한다.
- [0117] II형 CRISPR-Cas 시스템은 구성요소 측면에서 가장 단순한 것으로 간주된다. II형 CRISPR-Cas 시스템에서, CRISPR 어레이를 성숙한 crRNA로 가공하는 데에는 특별한 엔도뉴클레아제 서브유닛의 존재가 필요하지 않고, 오히려 어레이 반복 서열에 상보적인 영역을 갖는 작은 트랜스-암호화된 crRNA(tracrRNA)가 필요하며; 여기서 tracrRNA는 이의 상응하는 작동자 뉴클레아제(예: Cas9) 및 반복 서열 둘 다와 상호작용하여 전구체 dsRNA 구조를 형성하는데, 이는 내인성 RNase III에 의해 절단되어 tracrRNA 및 crRNA 둘 다와 함께 로딩되는 성숙한 작동자 효소를 생성한다. Cas II 뉴클레아제는 DNA 뉴클레아제로서 문서화되어 있다. 2형 작동자는 RuvC-유사 뉴클레아제 도메인의 접힘부 내에 삽입된 무관한 HNH 뉴클레아제 도메인과 함께 RNase H 접힘부를 입양하는 RuvC-유사 엔도뉴클레아제 도메인으로 이루어진 구조를 일반적으로 나타낸다. RuvC-유사 도메인은 표적 (예를 들어, crRNA 상보적인) DNA 가닥의 절단을 담당하는 반면, HNH 도메인은 변위된 DNA 가닥의 절단을 담당한다.
- [0118] V형 CRISPR-Cas 시스템은 II형 작동자의 구조와 유사하고, RuvC-유사 도메인을 포함하는 뉴클레아제 작동자(예: Cas 12) 구조를 특징으로 한다. II형과 유사하게, (전부는 아니지만) 대부분의 V형 CRISPR 시스템은 tracrRNA를 사용해 pre-crRNA를 성숙한 crRNA로 처리하지만; pre-crRNA를 다수의 crRNA로 절단하기 위해 RNase III을 필요로 하는 II형 시스템과 달리, V형 시스템은 작동자 뉴클레아제 자체를 사용해 pre-crRNA를 절단할 수 있다. II

형 CRISPR-Cas 시스템과 마찬가지로, V형 CRISPR-Cas 시스템도 DNA 뉴클레아제로서 문서화되어 있다. II형 CRISPR-Cas 시스템과 달리, 일부 V형 효소(예: Cas12a)는 이중 가닥 표적 서열의 제1 crRNA 유도 절단에 의해 활성화되는 강력한 단일 가닥 비특이적 데옥시리보뉴클레아제 활성을 갖는 것으로 보인다.

[0119] VI형 CRISPR-Cas 시스템은 RNA-가이드된 RNA 엔도뉴클레아제를 갖는다. RuvC-유사 도메인 대신에, VI형 시스템의 단일 폴리펩티드 작동자(예: Cas13)는 2개의 HEPN 리보뉴클레아제 도메인을 포함한다. II형 및 V형 시스템 둘 다와는 다르게, VI형 시스템도, 일부 구현예에서, pre-crRNA를 crRNA로 가공하는 데 tracrRNA를 필요로 하지 않는 것으로 보인다. 그러나, V형 시스템과 유사하게, 일부 VI형 시스템(예: C2C2)은 표적 RNA의 제1 crRNA 유도 절단에 의해 활성화되는 강력한 단일-가닥 비특이적 뉴클레아제(리보뉴클레아제) 활성을 갖는 것으로 보인다.

[0120] 아키텍처가 더 단순하기 때문에, 클래스 II CRISPR-Cas는 설계자 뉴클레아제/게놈 편집 애플리케이션으로서 조작 및 개발에 가장 널리 채택되어 왔다.

[0121] 이러한 시스템을 시험관 내 용도로 초기에 도입한 것 중 하나는 Jinek 등의 문헌에서 확인할 수 있다 (문헌 [Science. 2012 Aug 17;337(6096):816-21], 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨). Jinek의 연구에서 다음을 포함하는 시스템이 처음 기술되었다: (i) 재조합적으로 발현되고, 화농성 연쇄상구균(*S. pyogenes*) SF370으로부터 단리된, 정제된 전장 Cas9(예를 들어, 클래스 II, II형 Cas 효소); (ii) 절단될 표적 DNA 서열에 상보적이고, 3' tracr-결합 서열이 이어지는, 약 20 nt의 5' 서열을 갖는 정제된 성숙한 약 42 nt의 crRNA(T7 프로모터 서열을 갖는 합성 DNA 템플릿으로부터 시험관 내 전사된 전체 crRNA); (iii) T7 프로모터 서열을 갖는 합성 DNA 템플릿으로부터 시험관 내 전사된 정제된 tracrRNA; 및 (iv) Mg²⁺. 이후에, Jinek은 (ii)의 crRNA가 링커(예: GAAA)에 의해 (iii)의 5' 말단에 결합되어 Cas9를 저절로 표적을 향하게 할 수 있는 단일 융합된 합성 가이드 RNA(sgRNA)를 형성하는 개선된, 조작된 시스템을 기술하였다.

[0122] 이후에, Mali 등은 다음을 암호화하는 DNA를 제공함으로써, 포유류 세포에 사용하기 위해 이 시스템을 채택하였다: (i) C-말단 핵 국소화 서열(예를 들어, SV40 NLS)을 갖는 적절한 포유류 프로모터 및 적절한 폴리아데닐화 신호(예를 들어, TK pA 신호) 하에 코돈 최적화된 Cas9(예를 들어, 클래스 II, II형 Cas 효소)를 암호화하는 ORF; 및 (ii) 적절한 중합효소 III 프로모터(예를 들어, U6 프로모터) 하에 sgRNA(G로 시작하는 5' 서열에 이어, 3' tracr-결합 서열에 결합된 20 nt의 상보성 표적화 핵산 서열, 링커, 및 tracrRNA 서열을 갖는)를 암호화하는 ORF (Mali 등의 문헌[Science. 2013 Feb 15; 339(6121): 823-826]을 참조하고, 동 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).

[0123] **조작된 뉴클레아제**

[0124] 일부 양태에서, 본 개시는 신규한 핵산 가이드된 뉴클레아제 및 시스템을 조작하는 것에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 조작된 뉴클레아제는 시험관 내, 생체 내, 또는 생체 외 응용을 위한 원핵 또는 진핵 세포에서 기능적이다. 일부 구현예에서, 본 개시는 핵산-가이드된 뉴클레아제 시스템 및 이의 구성요소와 관련된 시스템을 조작하고 최적화하는 것, 게놈 조작에 사용되는 방법, 및 조성물에 관한 것으로, 게놈 조작은 게놈 섭동 또는 유전자 편집과 같은 서열 표적화를 포함한다.

[0125] 일부 양태에서, 본 개시는 조작된 뉴클레아제를 제공하며, 조작된 뉴클레아제는 핵산 가이드된 뉴클레아제, 키메라 뉴클레아제, 및 뉴클레아제 융합을 포함할 수 있다.

[0126] **키메라 또는 융합 조작된 뉴클레아제**

[0127] 본원에 기술된 것과 같은 키메라 조작된 뉴클레아제는 하나 이상의 단편 또는 도메인을 포함할 수 있고, 단편 또는 도메인은 본원에 기술된 속, 종, 또는 기타 계통 발생 군의 유기체의 오르토토그인 핵산-가이드된 뉴클레아제의 단편 또는 도메인일 수 있다. 단편은 상이한 종의 뉴클레아제 오르토토그로부터 유래될 수 있다. 키메라 조작된 뉴클레아제는 적어도 2개의 상이한 뉴클레아제의 단편 또는 도메인으로 구성될 수 있다. 키메라 조작된 뉴클레아제는 적어도 2개의 상이한 종 유래의 뉴클레아제의 단편 또는 도메인으로 구성될 수 있다. 키메라 조작된 뉴클레아제는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상의 상이한 뉴클레아제의 단편 또는 도메인으로 구성되거나, 상이한 종 유래의 뉴클레아제의 단편 또는 도메인으로 구성될 수 있다. 일부 구현예에서, 키메라 조작된 뉴클레아제는 하나의 뉴클레아제의 둘 이상의 단편 또는 도메인을 포함하되, 둘 이상의 단편 또는 도메인은 제2 뉴클레아제의 단편 또는 도메인에 의해 분리된다. 일부 실시예에서, 키메라 조작된 뉴클레아제는 각각이 상이한 단백질 또는 뉴클레아제의 단편인 2개의 단편을 포함한다. 일부 실시예에서, 키메라 조작된 뉴클레아제는 각각이 상이한 단백질 또는 뉴클레아제의 단편인 3개의 단편을 포함한다. 일부 실시예에서, 키메라 조

작된 뉴클레아제는 각각이 상이한 단백질 또는 뉴클레아제의 단편인 4개의 단편을 포함한다. 일부 실시예에서, 키메라 조작된 뉴클레아제는 각각이 상이한 단백질 또는 뉴클레아제의 단편인 5개의 단편을 포함한다. 일부 실시예에서, 키메라 조작된 뉴클레아제는 3개의 단편을 포함하되, 적어도 하나의 단편은 상이한 단백질 또는 뉴클레아제의 단편이다. 일부 실시예에서, 키메라 조작된 뉴클레아제는 4개의 단편을 포함하되, 적어도 하나의 단편은 상이한 단백질 또는 뉴클레아제의 단편이다. 일부 실시예에서, 키메라 조작된 뉴클레아제는 5개의 단편을 포함하되, 적어도 하나의 단편은 상이한 단백질 또는 뉴클레아제의 단편이다.

[0128] 상이한 뉴클레아제 또는 종의 단편 또는 도메인 사이의 접합은 비구조화된 영역의 신장부에서 발생할 수 있다. 구조화되지 않은 영역은 단백질 구조 내에서 노출되거나 다양한 뉴클레아제 오르토로그 내에서 보존되지 않는 영역을 포함할 수 있다.

[0129] *MG 키메라 효소*

[0130] 본원에 기술된 CRISPR 작동자는 천연 PAM 특이성을 갖는다(도 1 참조). 일 양태에서, 본 개시는 단백질 조작에 의한 신규한 PAM 특이성을 가능하게 한다. 신규한 PAM 특이성의 이러한 활성화는 RNA 가이드된 CRISPR-결합 뉴클레아제의 도메인 스와핑에 의해 달성될 수 있다(도 2 참조). 도메인 스와핑 및 재조합 프로세스에는 최적의 중단점이 있을 수 있다. 최적의 중단점은 본원에 기술된 다수의 서열의 정렬에 의해 가이드될 수 있다(도 3 참조).

[0131] 일부 양태에서, 본 개시는 융합 엔도뉴클레아제를 제공하며, 상기 융합 엔도뉴클레아제는: (a) 서열번호 696 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 Cas 엔도뉴클레아제의 RuvC 도메인, REC 도메인, 또는 NHN 도메인을 포함하는 N-말단; 및 (b) 서열번호 697~721 중 어느 하나 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 Cas 엔도뉴클레아제의 WED 도메인, TOPO 도메인, 또는 CTD 도메인을 포함하는 C-말단을 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 엔도뉴클레아제는 (a)에서 RuvC 도메인, REC 도메인, 및 HNH 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 엔도뉴클레아제는 (a)에서 RuvC 도메인 및 HNH 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 엔도뉴클레아제는 (b)에서 WED 도메인, TOP 도메인, 및 CTD 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, N-말단 서열 및 C-말단 서열은 동일한 판독 프레임에서 함께 자연적으로 발생하지 않는다. 일부 구현예에서, N-말단 서열 및 C-말단 서열은 상이한 유기체로부터 유래된다. 일부 구현예에서, N-말단 서열은 RuvC-I 도메인, BH 도메인, 및 RuvC-II 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, C-말단 서열은 PAM-상호작용 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 1~27 또는 108 중 어느 하나와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 엔도뉴클레아제는 mnRGGnT(서열번호 53)가 아닌 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 구현예에서, 융합 엔도뉴클레아제는 서열번호 46~52 또는 54~66 중 어느 하나를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0132] 일부 양태에서, 본 개시는 서열번호 1~27, 108, 또는 109~110 중 어느 하나와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 조작된 핵산 서열을 포함하는 엔도뉴클레아제를 제공한다. 일 양태에서, 본 개시는 서열번호 8~12, 26~27, 또는 108 중 어느 하나와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 조작된 핵산 서열을 포함하는 엔도뉴클레아제를 제공한다. 일 양태에서, 본 개시는 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 시스템은: 본원에 기술된 뉴클레아제; 및 다음을 포함하는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함한다: 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성되고, 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 가이드 리보핵산 서열. 일부 구현예에서, 조작된

가이드 리보핵산 서열은 tracr 리보핵산 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 미배양 미생물로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 Cas9 엔도뉴클레아제, Cas14 엔도뉴클레아제, Cas12a 엔도뉴클레아제, Cas12b 엔도뉴클레아제, Cas 12c 엔도뉴클레아제, Cas12d 엔도뉴클레아제, Cas12e 엔도뉴클레아제, Cas13a 엔도뉴클레아제, Cas13b 엔도뉴클레아제, Cas13c 엔도뉴클레아제, 또는 Cas13d 엔도뉴클레아제가 아니다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 SpyCas9 엔도뉴클레아제와 86% 미만의 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, 시스템은 Mg²⁺의 소스를 추가로 포함한다.

[0133]

일부 양태에서, 본 개시는 융합 엔도뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 시스템은: (a) 본원에 기술된 엔도뉴클레아제 중 어느 하나(예를 들어, 다음을 포함하는 융합 엔도뉴클레아제: (a) 서열번호 696 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 Cas 엔도뉴클레아제의 RuvC 도메인, REC 도메인, 또는 NHN 도메인을 포함하는 N-말단; 및 (b) 서열번호 697~721 중 어느 하나 또는 이의 변이체와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 Cas 엔도뉴클레아제의 WED 도메인, TOPO 도메인, 또는 CTD 도메인을 포함하는 C-말단); 및 (b) 다음을 포함하는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조: 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 가이드 리보핵산으로서, 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 가이드 리보핵산 서열을 가진 가이드 리보핵산. 일부 구현예에서, 가이드 리보핵산은 tracr 리보핵산 서열을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 미배양 미생물로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 Cas9 엔도뉴클레아제, Cas14 엔도뉴클레아제, Cas12a 엔도뉴클레아제, Cas12b 엔도뉴클레아제, Cas 12c 엔도뉴클레아제, Cas12d 엔도뉴클레아제, Cas12e 엔도뉴클레아제, Cas13a 엔도뉴클레아제, Cas13b 엔도뉴클레아제, Cas13c 엔도뉴클레아제, 또는 Cas13d 엔도뉴클레아제가 아니다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 SpyCas9 엔도뉴클레아제와 86% 미만의 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, 시스템은 Mg²⁺의 소스를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 8~12, 26~27, 또는 108 중 어느 하나와 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 가이드 리보핵산 서열은 서열번호 33, 34, 44, 45, 78, 84, 또는 87 중 어느 하나의 비축퇴 뉴클레오티드(non-degenerate nucleotides)와 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0134]

본 개시의 시스템은, 예를 들어 핵산 편집(예: 유전자 편집), 핵산 분자에 대한 결합(예: 서열-특이적 결합)과 같은 다양한 응용에 사용될 수 있다. 이러한 시스템은, 예를 들어 대상체에서 질환을 유발할 수 있는 유전적으로 물려받은 돌연변이를 처리(예를 들어 제거 또는 치환)하는 데 사용될 수 있고, 세포에서 유전자의 기능을 확실하게 하기 위해 유전자를 불활성화시키는 데 사용될 수 있고, (예를 들어, 역-전사된 바이러스 RNA를 절단하거나 질환-유발 돌연변이를 암호화하는 증폭된 DNA 서열을 절단함으로써) 질환을 유발하는 유전적 요소를 검출하기 위한 진단 도구로서 사용될 수 있고, 특정 뉴클레오티드 서열(예를 들어, 박테리아에서 항생제 내 박테리아를 암호화하는 서열)을 표적화하고 검출하기 위한 프로브와 조합된 비활성화된 효소로서 사용될 수 있고, 바이러스 계통을 표적화함으로써 바이러스를 불활성화시키거나 바이러스가 숙주 세포를 감염시킬 수 없게 하는 데 사용될 수 있고, 유전자를 추가하거나 대사 경로를 변경하여 유기체가 귀중한 소분자, 거대분자, 또는 이차 대사물을 생산하도록 이를 조작하는 데 사용될 수 있고, 진화적 선택을 위한 유전자 구동 요소를 확립하는 데 사용될 수 있고, 바이오센서로서 외래 소분자 및 뉴클레오티드에 의한 세포 섭동을 검출하는 데 사용될 수 있다.

[표 A]본원에 개시된 선택된 서열

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	기타 정보	서열
MG3 키메라 작동자	696	MG3-6 N- 말단 단편 (1~742)	단백 질	인공 서열		MSTDMKNYRIGVDVGDERSVGLAA IEFDDDGLEPIQKLALVTFRHDGG LDPTKNKTPMSRKETRGIARRTM RMNRERKRRLRNLDNVLNLGYS VPEGPEPEYEAWTSRALLASIK LASADELNEHLVRAVRHMARHRG WANPWMSLDQLEKASQEPSETFE IILARARELFGEKVPANPTLGML GALAANNEVLLRPRDEKRRKTY VRGTPLMFAQVRQDQLAELRRI CEVQGIEDQYEALRGLVFDHKHP YVPKERVGKDPPLNPSTNRTIRAS LEFQEFRIIDSVANLRVIGSRA KRELTEAEYDAAEVFLMDYADKE QPSWADVAEKIGVPGNRLVAPVL EDVQKTA PYDRSSAAFEKAMGK KTEARQWWESTDDQLRSLLI AF LV DATNDTEEA AAEAGLSELYKS WPAEREALSNI DF E KGRVAYSQ ETLSK LSEYMH EYRVLGHEARKA VFGVDDTW RPPDKLE EPTGQPA VDRVLTILRRFVLD CERQWGRPR AITVEHTRTGLMGPTQRQKILNE QKKNRADNERIRDELRESGVDNP SRAEVRRLI VQEQECQCLYCGT MITTTTSELDHIVPRAGGSSRR ENLAAVCRACNAKKRELFYAWA GPVKSQETIERVRQLKAFKDSKK AKMFKNQIRRLNQTEAD EPI DER SLASTSYAAVAVRERLEQHFNEG LALDDKSRVVL D VYAGAVTRESR RAGGIDERILLRGERDKNRF D VR HHA VDA
MG1 키메라 작동자	697	MG1-4 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		ICISFSRDFKYDKEIKKDIKGF NPEIVKNAIDKIMPPYANDKPF KGNTKPLETIYGLR TYGKSYIT QRVELNSIDKKATKIKSII DETI KNDLLNKLKENPTEQEWKMLQN YIHPKKQT KVKVMISVSEGEIT KDSNNRERMGEFVDFGTGQTQH FKHSKRHKGQILYFNEKGVVEVM PVYSNIKT TDVKDKLQNMGCKLY NKGQMFYSGLVDIPKPFKAGSK EYPAGRYQIKTIRSDKVAELED A CGNKISTNVKYL VPAEFKKVESK
MG1 키메라 작동자	698	MG1-5 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		MCICFAPTSNAKKALSRKNILPE EIAKNPESDDARNFFAKYLA EVV PTKVAIKKPELEQTIYSKRVI GG RQTIVKCCNVRDLAYKGQNP KYD FDLTKRIKDIINPVSKRVIEDF AKTEPTEAEWEDWKYEA AIPSK NGSPTRLLRVLCKTKDDAERFKD LSKDGC GAYRKS KSHKQFIWKD

[0135]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	기타 정보	서열
						NKGNLVAPVYIYSSKQVYAE KNNPKCMGICDFKGTGCLVKISN EVDKKNRLWLKAGFYNLNSIA KEKRVYLTDVNGQEHKKIPLQHL MNAGMKRVETNTI
MG1 키메라 작동자	699	MG1-6 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		MCLCFAPTGVDSRRRAKLGEILPE KLRSEKAAREFFKSYLTKIMPVD VAPKPKRLEDGIYSKRIGGKAC MVKRNNLVDLAYKSGLKPVDIP TLIKLVDKKEKGIINPQIRKMIG EFAATNPDESARWKWCEEVRLPS KSGLGARVLRVLYYGEADEYKD LSKDGCGAYRKGDKGKQVWVES VDGKYVPEPVYVHASKAGVMAAL NANPKKRICGMFNSHCTVDVGD VYNDRGDFILPAGRYMNTILTT GRCVLTNADGEKRNPIININYLMR AGMRRVLESEL
MG1 키메라 작동자	700	MG1-7 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		MCLCFAPTGVNSKRARVDMMLPP KIRSEKAELFFRKYLDKLPVD VAPKPKLEDDGIYSMRTVGGKKI MARRVNLVDLAYKSGLKPVDVVS VLIKLLDKKRGIIINPQIRKLVA DFARTNPSEDEWKKWCGECLPS KNGLGTRVIRVLLNYGEPAEYKD LSKDGGRGAFRRGDGKQVWVES TDGKYCVLPIYVHASKAKLLAEL CANPKKRICGIFTSHCMVKVGN TYNNKGELLLPEGVYMLNIRT DGIQVTSANGDKSKPININYLK AGMKKVPVKDL
MG2 키메라 작동자	701	MG2-4 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		LTLGLATALVPGIERKELRRALS LRQAKGDDATLLRSDPKLGEALR WRTEDRFEAAPLSGKLESVARRA LAEGRVVQHVPAKRQGMKVDNSF FGFVEFDETRLRVVRQKMRSPPT RRREIKTTVKNKGNLHTLSHLSL DPKSWLGPDPHPLRRKQLEHGLR TENDLANPKLGNIRGMLPIRENW GIALITKDGSPRLDVIPYINVHQ WLEVLALENGGSPVLRKGLV GFDAEKCPPEYCGAWMLLGVKDG RSGTTLELIRPMMVAPRGGTKE SSAKQAIKPASGYSEKEGKASGV FLQRSADVFLKGLRPLDHDLTG IAAF
MG2 키메라 작동자	702	MG2-7 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		VTQGLALLLFAPEDWPLLVKRNL PDSEQRHLKARYPFLDFSADKHI SIQDLPEDTLHTISERLAECRVV RHIPAKMHGIIVDQTTWGTVAAG AITTLRQKTTEKNARCDENGKRF IKTTEKRSLLLGGPDAPDGKLA KIKGAILVTENWGCALDPSPTVI PHFKVYPQLRALREKNGGRPIRI LRKGSLLQVKAGTYQGIWSVASI

[0136]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	기타 정보	서열
						KDNADGICLDINAADKVKLENRS DDSKINVRDLSLRKSGLKILKPK LTGACPTTSSP
MG3 키메라 작동자	703	MG3-1 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		AVLTLQSPAITYRVLLTRVNLKHE HEVTGEAPEWRDYEGADQAEKVL YRRWQKNIATLAELMRQEIENNR VPVTRPIRLRKSARGAVHDATVMK ALERDLWGEWDAQAIDRLVDPPEL HLALRKLFTSTKSKKIDVDATSQ GLPERYLANQTVQLFDADAPSVM SPRGILRIGAGTHHARLLTWDDP KKGPQLGIQRVFAAEFGEILKDA SSNDLFEAPIPFHTMSHRDLQPK VRAAVEQGLTRQIGWITQGDELE IDPADFVGEANAFGNFREFPER SWSIAGLKSNTIVIRPLLSQE GVTAASIPHAAKIVENGIELSNS TLFTAPGTGIIRRTGLGRPRWDS GPAHLPESFNVHARMTQQSARD
MG3 키메라 작동자	704	MG3-2 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		AVLTLDPVAKTLAMRLDLKRE QQDSGRDTRWKEFKGLTPASQER FIKWQASECLADMLRQQIEADR VPVVVPLRISPSNGAVHDDSVRP LTRQKIDSTWDRKSINRIVDPEI HVAMRRLNNGTSLPEDKNRVL LPDGNELGPHDEVELFSTSAASI KLRRGSAEIGGSIHHARVYAWM GAKGQLEYGMMRVFGAEFPTLTK LSGSKDILRMPHAGSMSYRDMQ DRVVRKPIESDIAVELGWITQGDE LEILPEAHLETAGGLGDFLKSFP ETQWTIDGFNDPSRLRVRPRLMS LEGRDIDAMGHLSDETEKLIKQ ALSKGLMVSASELLSHGAKIIRR DHLGRPRWRGNARPVSELEQVA NQLVNHRSVDGQ
MG3 키메라 작동자	705	MG3-3 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		AVMTLLNPSVAVTLEQRRMLKQE NDYSSPRGQHDNGWRDFIGRGEA SQSKFLHWKKTAVVLADLISEAI EQDTIPVVNPLRLRPNQGSVHKD TVEAVLERTVGDSTDKQVSRIV DPNTYIAFLSLLGRKKELDADHQ RLVSVSAGVKLLADERVQIFPEE AASILTPRGVVKIGDSIHHARLY GWKNQRGDIQVGMRLRVFGAEFPW FMRESGVKDIRVPIPGGSQSYR DLAATTRKFIENGQATEFGWITQ NDEIEISAEEYLATDKGDILSDF LGILPEIRWKVTGIEDNRRIRLR PLLSSEAIIPNMLNRRLLTQEEH DLIALVINKGVRVVSTFLALPS TKIIRRNGLIPRWRGNHGLPTS LDIQRRAATQALEGRD

[0137]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	기타 정보	서열
MG3 키메라 작동자	706	MG3-4 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		AVMTLLNRSVALTLEQRSQLRRA FYELELDKLDKDRDQLKPGEDWRNF TGLYEASQNKFSWKKAATVLDG LLAEAIEDDAIAVVSPLRLRPQN GSVHDDTINAVKKKLTLSAWPAD AVKRIVDPEIYLAMKDVLGKKE LPEDSARSELESDGRYIEADDEV LFFPKAASILTFRGAAEIGNSI HHARLYSWLTKKGELKFGMLRVY GAEFPWLMRESGSRDVLHMPIHP GSQSFQMGQDGVKAVESGEAVE FGWITQDDELEFDPEYIAHGGD DELNRLRLVMPERRWRVDGFYNA GTLRIRPALLSAEQLPSELQKKV ADKTLSDVELILLRAVQRGLFVA ISSFLPLESLKVIIRRNLLGFPRW RGNGNLPTSFEVRSSALRALGVE G
MG3 키메라 작동자	707	MG3-7 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		AVLTLNRSVAVTLEQRRLIKQQ REYSLEKSRREDNVWRDFMGLG PAAQEKFAKWKKTAYVLADIIKE ATSNDAIPVVSPLRLRPQNGSVH LDTVDAVLERTIGDAWTVDQVHR IVNPQIYLAFAGYLGNQKALDPD SSRVLALNDGRKLTAEVVIYVFP EKAASILTFRGVKIGESVHHVR LYAWKNRKGKAEVGMRLRVFGAEF PWLRESGVKDVLRVPIHTGSQS YRDLSTVTRKNIKGEAAEIGWL TQNEELEFNPESYLQEGGKDLA KFLAFLPETRWRVDGFMPDKLR IRPALLSREEIEPEGVFRTEEQSL LEEALTKGLIATKGLLSLPDVK VLRNLLGIPRWRGGSYRPVSLD IQRAALALDEQE
MG3 키메라 작동자	708	MG3-8 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		AVMTLLNRSVALTLEQRSQLRRA FYEQGLDKLDRDQLKPEEDWRNF IGLSLASQKFLKWKVTTVLGD LLAEAIEDDSIAVVSPLRLRPQN GRVHKDTIAAVKKQTLSAWSAD AVKRIVDPEIYLAMKDALGKSKV LPEDSARTLELESDGRYLEADDEV LFFPKNAASILTFRGVAEIGGSI HHARLYSWLTKKGELKIGMLRVY GAEFPWLMRESGSHDVLRMPIHP GSQSFQMGQDTRKAVESSEAVE FAWITQDDELEFDPEYIAHGGK DELRFQLEFMPECRWRVDGFKKN YQIRIRPAMLSREQLPSDIQRRR ESKLTENESLLKALDTGLVVA IGGLPLGTLLKVIIRRNLLGFPRW RGNGNLPTSFEVRSSALRALGVE G

[0138]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	기타정보	서열
MG4 키메라 작동자	709	MG4-2 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		VAIALTDPAAKKSISQAASDERR GGRVSGAVALPWVDFIGDVQAA IEAINVSHRPSRKVNGALHEETF YGPRGMDGDRPTGYVQRKPVVER LSAKEIPNIPDPAVREAVQAKLD EVGGTPAQAFKDPANHPVRKRG PVHKVRLRLNINPVQVSGGATER HVL TGSNHMEIEIVRDAKGGKK WTGRLVHRLEAKRRALGRETIVD RAVQAGRQFQFSLSPGDMIELTG EDGERKLVVRSISEGRIEYVDA RDARKKADIRASGDWRKPAVGS LRLHCRKVVVTFPGEIRYAND
MG4 키메라 작동자	710	MG4-5 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		VVIALTGPQVQALTRAAALRAKE LGRRLFVPLDPPWADRDSFLRDV RASVEAITVSYRVDRKVSQGLHE ESNYSKPHMTVDNKGNLVEHRHI RKPLKDMSEVEEVAIVDDRVRKL VQEKLRQLGQEPKFAFEANHP YFTTADGRLVPIHKARIRKTVAT ITVGPQCPRHVAPLNHHIEIL AVRDPAGAVTHWEGELVSLFEAA RRVKAGEPVVRRNHGPNKDFLFS LAKGEYVEMELQPGKRQLFRVTV ISAKQIEFRLHHDARPTMLLRKT PGARVIRSPGSLFKAKARKVAVD PLGNVFPAND
MG6 키메라 작동자	711	MG6-3 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		IVVAFTNRSTLKRLSDENKRIGT AEWMDADESGRATNDEIKRRLGG RIDLSEWPVTFRNDVEVSINNIT VSHRVNRKVS GALHEETYYGPTD EPAPKNKEMMVLKRSVHQLSKKD LGLIRDETIRQIVNDEVQKMDN GESQANAIASLEADPPFIISPKA KVPIRKVRLMKKDPQIMHYFEN KNGEEDRAALYGNHHIAIYETS DKNGVKKQIGIVIPMMEAARRVK DGDPIVMKDYRPDHTFLYSLAKN DMIFNHEDEQIYRVQKINS DGTI MFRQNNVAMKQSDPGVYFKSGS RLGASKIKISPIGEIFPAND
MG14 키메라 작동자	712	MG14-1 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		CVIAACSPSLVIKTARINQETHW SITRGMNETQRRDAIMKALSV PWETFANEVRAAHDFVVPTRFVP RKGGELFEQTVYRYAGVNAQGG DIARKASDDKDIVMGNVVSAD KSVIKVSEMLCLRWHDPKAKG QGAWYADPVYKADIPALKDGT PRIAKAHTGRKAWKVPESAMAK PPLEIYFGDLVQIGDFIGRFS GYNINNANWSFTDRLTRLNLSC PTV GQLNNDLSPVVIRESPIK
MG15 키메라 작동자	713	MG15-1 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		VIACATQGVINVKVSRYSKSR ELWDYEVDMETGEVLQKKNKNT KDV FPEPWLNFRYELEQKVRVR PLDI

[0139]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	기타정보	서열
						PETADITEMEPPVSHMPNRKIH GPAHKETIRSGRLKEEGYISKI ALIDLKLTEDKEIKGYNKESD RLLYEALKKQLQRYGGKAKEAFK EPFHKPKADGTPGPVNVKIME KSTMLIPVNGGKGLASNGMVRI DVFRAEEKGKKYYPVYVADT VKEELPNRAVLAHKPYEAWKIMK EENFIFSLYPNDLIFVDAGKEIP FKAALKGSTLDPEKKASRFLMY KGADIATGSGVNHDETYKARG VGIQSLREIKKCCIDVLGNISFA SKEKRQTFR
MG16 키메라 작동자	714	MG16-1 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		LTVALTRQSYIQRNLTEASHEH MEKLVKEANTPYKEKSLLEKVV ALQPHFSVEEVTQVDGILVSR AGKRVTTPARRAVYHGGKRTIVQ RGIQVPRGALTEDTIYKLGDKF VVKYALDHPSMKPENIVDPTIRL LVENRITAGKDAFKTPLYSAE GMEIKSVRCYTSLSEKGVPIKY NEKGNAIQFAKGNHHVAIYKD QSGQYQEMVVSFWDVAERKLVG PTVITNPKTVWDELLEKELPQDF LEKLPKDNWQYVLSMQENEMFVL GMEEDFNDAIDTQDNTLNKHL YRVQKLSHADYTFRFHTETKVD KYDGVENGRNTSMLKALVIRRS FNGLFTQFPKVKIDIMGRITKA
MG16 키메라 작동자	715	MG16-2 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		LVVACTKQSYIQRNLNTERDA MYQDIEAQSVWEKHKSLLEKWI KLQPHPTVSEVTDKVDLILVSR AGKRVATLGRSVYKNGKKTIVQ NNIIVPRGALCEESVYGQINLIE KNKPIKYL FENPSLIFKPYIKAL VEERLKEYNGDTSKAISLKNNP IYLRKDKSVVLEYGTCYKKEYVK KYSLNSIKAKDVDSIDKHIREV VRQRLEDNNNEKAASFPLYAD KQKQIPIKSVRCTTGINIAAPVN YNESNDPISFVKPGNNHIAIYK DKDGKRQEHIVTFWHAVERKYG MPVVITNPKIWDLIEKSLDLP ESFLNCLPNSDWNYEISMQQNEM FVMGSEDEFQDAIRNDYKTLN KYLRYVQSVSESDYWLRLHIETM NDKTPENI IKKYRIKINTFF NPNPHKVKITLLGEIQSS
MG18 키메라 작동자	716	MG18-1 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		YLNNAVGNVYHEKFTKNPLRFVR SGQEYSLNLSALFQNNIYKGG VIWQKGEDGSLTVRARMKNDP MVTRYCTEGRGALYDLQPMKSK GQLPLKSSDERLQHIDRYGGYK LAGAYFTLAAYYKKGKRVKIES VPLYLAAKLQRDPAALQQYLADQ

[0140]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	기타 정보	서열
						LGTDRVEILVPEIKLGLTFKWNG YPMTLSGRTGPQLLFRNAELRT NAEQEQYIKKMSRYLEKCKGRKE PLPIRPAYDKLTPEENLQLYDAF TQWLTSGIYAKRLSLQGKFLLEK RDAFAALSPEAQVRQLMEILHLF QCNPVAANLSELGGAHAGILLA SKNIDGKVPVSIHVQSVTYGYFTQ EVCLNDL
MG21 키메라 작동자	717	MG21-1 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		AVIACITPGMIQKITKYAQNHER FYATAKGYVDIETGEVLRSEYE AMDDIRFPPEPWGFRSELEARVS EHPQEAIAARLKLPHYENSEEIRP IFVSRMPNHKVTGAAHLETIRSK KGGAGSTVTKTALPDLKLDKNGE IAGYYRKEDDPLLYEALKARLKA FGDGKKAFAEPPHKKPHNGEPG PIVKKVKIQESATLTPVNHGIA ANGSMVRLDVFHVDGQGYFVPI YTSDTVKPELPNRAVVAGRRVQE WKVMDDSYFKFSLYPKDLIRIRS KKGIKLKAVNRNADLQEYSTNDC LCYFVKFNISTGALSVENHDRKF EQPGLGGKLLSIEKYQVDVLGN YSPVALPEKRMKFR
MG22 키메라 작동자	718	MG22-1 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		IAIACINRSIVNYLNNAANQTE REDLRRAVCIPERNQTKRQLRS PWHCFARDAENALRQIVVSFKQN LRVATKATNSYECFDTASGKKIR KHQSNREHYAIRKPLHKDSVYGE VILTSIASVNLKALLKAERILD KRLKEKIFELRKLNYNSNKQIEE HLTKVCINCPKDYDFKKIAVR ILSNDADATHIVAIRKPLDESFD EVKINTITDTGIQKILLNHLRSY ADDPKKAFFSPEGIEDMNANIASL NGGKQHLPIYKVRVSEKDNNGGYF PIGQKGNRPKKYVTTAKDNLFF AVYADSKGKRSYKTIDLRTAIEC RKQGLSVAPSINEKGDLLFTLS PNDLYMPSSEGEANGFAIDNNL NKDQIYKMSANNKQCFIPHTV ADFSRGEENSHNKIELTEDRR SIKEHCVPPLKVNRLGK
MG23 키메라 작동자	719	MG23-1 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		YLNIVVGN TYSTKFTNPLNFIK AGAKRPQDNQFKYNMDFDYNV ISRGERAWIAGSDGSICTVKKFM SRNTVLITRKAKEVHGALSINKAT IWGKNVAKPGAYLPVKSTDLKAQ DVTKYGGITSIANSGYTLAEYKV NGKTTLSLEALPVYLGRAEQLTE KTVDYLSSSLQESSKKKIEDIQ VRKLFIPQGSKVKIDGFCYYLGG KTGDSIYLNNAVPLYLSSTSEY LRKLLKAVENNNYNERDKNGQII

[0141]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	기타정보	서열
						LTAPKNVQLLSIFDKLRSPFSS NNKWNIFYFSIVNGKETKVEQLFS KLSIDKQAEVISQIWIWINSRQ NVNLSLIGGSAHSGTQALSKTVS RLNECMLISQSIITGIYEHVSDLL TI
SaCas 키메라 작동자	720	SaCas9 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		LIIANADFIFKEWKKLDKAKKVM ENQMFEEKQAESMPEIETEYK EIFITPHQIKHIKDFKDYKYSR VDKKNRELINDTLYSTRKDDKG NTLIVNNLNGLYDKDNDKLLKI NKSPEKLLMYHDPQTYQKLLI MEQYGDEKNPLYKYEEETGNLT KYSKKDNGPVIKKIKYYGNLNA HLDITDDYPNSRNKVKLSLKP RFDVYLDNGVYKFTVKNLVDIK KENYEVNSKCYEAAKLLKISN QAEFIASFYNNDLIKINGELYRV IGVNNDLLNRIEVMIDITYREY LENMNDKRPPRIIKIASKTQSI KKYSTDILGNLYEVKSKKHPQII KKG
SaCas 키메라 작동자	721	SpCas9 C- 말단 단편	단백 질	인공 서열		YLNNAVGTALIKKYPKLESEFVY GDYKVDVRKMIKSEQEIGKAT AKYFFYSNIMNFFKTEITLANGE IRKRPLIETNGETGEIVWDKGRD FATVRKVLSPQVNIIVKTEVQT GGFSKESILPKRNSDKLIARKKD WDPKYGGSPTVAVSVLVVAK VEKGSKKLKSVEKELLGITIMER SSFENPIDFLEAKGYKEVKKDL IIKLPKYSLEFENGRKMLASA GELQKGNELALPSKYVNFYLAS HYEKLKGSPEDEKQQLFVEQHK HYLDEIIIEQISEFSKRIVLADAN LDKVL SAYNHRDKPIREQAENI IHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTID RKRYTSTKEVLDTLHQSITGL YETRIDLSQLGGD
MG3-6_3- 4 가이드 sgRNA 스캐폴드	722	MG3-6_3-4 가이드 서열 스캐폴드	뉴클 레오 티드(R NA)			NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNG TTGAGAATCGAAAATTCTTAAT AAGGCATCCTTCCGATGCTGACT TCTCACCGTCCGTTTTCCAATAG GAGCGGGCGGTATGTTTT

[0142]

[0143]

실시예

[0144]

실시예 1 - 플라즈미드

[0145]

Integrated DNA Technologies(IDT) 웹사이트를 통해 키메라 서열을 대장균 발현에 맞게 코돈 최적화하고, 합성하고, 달리 명칭되지 않는 한 Twist Bioscience에서 pET21 벡터 내로 클로닝하였다. pET21-MG3-6+MG15-1(WP) 및 pET21-MG3-6+MG15-1(P)을 작제하기 위해, 프라이머 P441-P446을 사용해 pMGX3-6 및 pMGX15-1로부터 유전자 단편을 증폭시켰다. 생성된 PCR 산물을 Zymo Gel DNA 복구 키트로 정제하고, NEBuilder HiFi DNA 어셈블리를 통해 pAL3(ClaI 및 XhoI에 의해 분해됨)으로 조립하였다. 클로닝된 키메라 유전자의 DNA 서열은 Elim Biopharm에 의해 제공되는 생거 시퀀싱 서비스에 의해 확인하였다.

[0146]

실시예 2 - 생물정보학적 분석

[0147]

본원에서 사용된 CRISPR II형 엔도뉴클레아제는 추정 HNH 및 RuvC 촉매 잔기의 존재에 기초하여 뉴클레아제 활성을 갖는 것으로 예측되었다. 또한, 구조적 예측은 PAM의 가이드, 표적화, 및 인식, 및 PAM과의 상호작용에 관여하는 잔기를 시사하였다. 중요한 잔기의 위치에 기초하면, II형 CRISPR 엔도뉴클레아제의 예측된 도메인 아키텍처는 특히 3개의 RuvC 도메인, HNH 엔도뉴클레아제 도메인, 인식 도메인, 및 PAM 상호작용 도메인을 포함하였다. CRISPR 어레이 다음의 전장 II형 엔도뉴클레아제를 암호화하는 게놈 서열의 경우, 뉴클레아제에 의해 단일 가이드 RNA로서 사용되도록 조작된 tracrRNA 서열을 예측하였다.

[0148]

선택된 가이드된 CRISPR II형 엔도뉴클레아제 서열의 다중 서열 정렬은 Geneious 프라이머 소프트웨어(<https://www.geneious.com/prime>에서 이용 가능함) 상의 내장식 MUSCLE 정렬기를 사용하여 수행하였다(도 3 참조). MG3-6 및 MG15-1의 단백질 구조는 DNASTAR NovaFold로 예측하고 Protean 3D를 통해 표시하였다. 키메라 조성의 세부 사항은 표 1에 나타나 있다. 가이드 RNA 최적화(도 7 참조)와 함께 예측된 구조 모델 정보에 의해

안내를 받으면서, 밀접하게 연관된 II CRISPR 엔도뉴클레아제뿐만 아니라 원위에서 관련된 II CRISPR 엔도뉴클레아제의 도메인을 연결함으로써 비-정준 PAM을 인식하는 단백질 변이체를 조작하였다.

표 1

키메라 조성물			
키메라	N-말단	C-말단	예시적인 서열 (서열번호)
MG3-6+MG1-4	MG3-6 (1~742)	MG1-4 (750~1025)	1
MG3-6+MG1-5	MG3-6 (1~742)	MG1-5 (789~1077)	2
MG3-6+MG1-6	MG3-6 (1~742)	MG1-6 (773~1059)	3
MG3-6+MG1-7	MG3-6 (1~742)	MG1-7 (775~1061)	4
MG3-6+MG2-4	MG3-6 (1~742)	MG2-4 (876~1201)	5
MG3-6+MG2-7	MG3-6 (1~742)	MG2-7 (817~1080)	6
MG3-6+MG3-1	MG3-6 (1~742)	MG3-1 (684~1050)	7
MG3-6+MG3-2	MG3-6 (1~742)	MG3-2 (755~1134)	8
MG3-6+MG3-3	MG3-6 (1~742)	MG3-3 (750~1132)	9
MG3-6+MG3-4	MG3-6 (1~742)	MG3-4 (743~1134)	10
MG3-6+MG3-7	MG3-6 (1~742)	MG3-7 (751~1131)	11
MG3-6+MG3-8	MG3-6 (1~742)	MG3-8 (741~1132)	12
MG3-6+MG4-2	MG3-6 (1~742)	MG4-2 (747~1043)	13
MG3-6+MG4-5	MG3-6 (1~742)	MG4-5 (747~1055)	14
MG3-6+MG6-3	MG3-6 (1~742)	MG6-3 (709~1027)	15
MG3-6+MG14-1	MG3-6 (1~742)	MG14-1 (756~1003)	16
MG3-6+MG15-1	MG3-6 (1~742)	MG15-1 (729~1082)	17
MG3-6+MG16-1	MG3-6 (1~742)	MG16-1 (787~1154)	18
MG3-6+MG16-2	MG3-6 (1~742)	MG16-2 (796~1227)	19
MG3-6+MG18-1	MG3-6 (1~742)	MG18-1 (997~1348)	20
MG3-6+MG21-1	MG3-6 (1~742)	MG21-1 (740~1098)	21
MG3-6+MG22-1	MG3-6 (1~742)	MG22-1 (1092~1521)	22
MG3-6+MG23-1	MG3-6 (1~742)	MG23-1 (1008~1377)	23
MG3-6+SaCas9	MG3-6 (1~742)	SaCas9 (706~1053)	24
MG3-6+SpCas9	MG3-6 (1~742)	SpCas9 (988~1368)	25
MG29-1+MG29-5 (WP)	MG29-1 (1~560)	MG29-5 (556~856)	109
MG3-6+MG15-1(WP)	MG3-6 (1~840)	MG15-1 (818~1082)	26
MG3-6+MG15-1(P)	MG3-6 (1~922)	MG15-1 (931~1082)	27
MG29-1+MG57-1 (WP)	MG29-1 (1~560)	MG57-1 (633~945)	110

[0149]

[0150]

실시예 3 - 시험관 내 PAM 농축 검정

[0151]

본원에서 사용된 뉴클레아제의 PAM 서열은 대장균 용해물 기반 발현 시스템 또는 재구성된 시험관 내 번역(New England Biolabs의 myTXTL, Arbor Biosciences, 또는 PURExpress) 중 어느 하나에서의 발현을 통해 결정하였다. 대장균 코돈 최적화된 단백질 서열을 T7 프로모터의 조절 하에 PCR 단편으로부터 전사하고 번역하였다. 이 혼합물을 단백질-특이적 sgRNA 및 PAM 플라스미드 라이브러리(PAM 라이브러리 U67/U40)를 사용해 반응 완충액(10 mM 트리스 pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM MgCl₂)으로 희석하였다. 플라스미드의 라이브러리는 단일 가이드가 일치하는 스페이서 서열에 이어서 8N 혼합 염기를 함유하였고, 이의 하위 집합은 올바른 PAM을 갖는 것으로 추정하였다. 1~3시간 후, 반응을 중단시키고, DNA 클린업 키트(예를 들어, Zymo DCC, AMPure XP 비드, QiaQuick 등)를 통해 DNA를 회수하였다. DNA를 대상으로 몽톡-말단 연결 반응을 수행하여, 원형 플라스미드는 변함없이 온전한 상태를 유지한 채, 절단된 라이브러리 플라스미드에 어댑터 서열을 첨가하였다. 라이브러리 및 어댑터 서열에 특이적인 프라이머(LA065 및 LA125)로 PCR을 수행하고, 겔 상에서 분해하여 활성 단백질 복합체를 식별하였다(도 4 및 도 6). 생성된 PCR 산물을 고 처리량 시퀀싱 프라이머(TrueSeq) 및 KAPA HiFi HotStart를 8의 순환 파라미터로 사용하여 PCR에 의해 추가로 증폭시켰다. NGS 분석을 거친 샘플을 4200 TapeStation(Agilent Technologies)에 의해 정량화하고 함께 풀링하였다. NGS 라이브러리를 AMPure XP 비드를 통해 정제하고, AriaMx 실시간 PCR 시스템(Agilent Technologies)을 사용하여 KAPA 라이브러리 정량화 키트(Illumina)로 정량화하였다. 8N에서 시작하는 라이브러리의 하위 집합인 이 라이브러리를 시퀀싱하여 올바른 PAM을 함유하는 서열을 밝혀냈다(도 5).

[0152] 실시예 4 - 생체 내 표적화를 위한 단일 가이드 설계

[0153] 본원에 사용된 단일 가이드(sgRNA) 구조는 5' -- 22nt 프로토스페이서 반복 - tracr -- 3' 의 구조를 포함하였다. 마우스 알부민 인트론 1을 표적으로 하는 20개의 단일 가이드는 Geneious Prime 소프트웨어 (<https://www.geneious.com/prime/>)를 사용하여 설계하였다. 일부 경우에, 가이드를 IDT에 의해 화학적으로 합성하고, IDT에 의해 최적화된 가이드의 화학적 변형("Alt-R" 변형)을 포함시켜 Cas9 가이드의 성능을 개선하였다.

[0154] 실시예 5 - mRNA의 시험관 내 전사

[0155] 키메라(예: MG3-6+MG3-4 (서열번호 10))를 암호화하는 코딩 서열(CDS)을 마우스에 대해 코돈 최적화하고 Twist biosciences에서 화학적으로 합성하였다. CDS를 mRNA 생산 벡터 pMG010 내로 클로닝하였다. pMG010의 구조는 다음 요소 서열을 포함하였다: T7 프로모터 - 5' UTR - 개시 코돈 - 핵 국소화 신호 1 - CDS - 핵 국소화 신호 2 - 종결 코돈 - 3' UTR - 107 뉴클레오타이드 폴리A 꼬리 (서열번호 108). MG3-6+MG 3-4 CDS를 함유하는 플라스미드 pMG010을 EndoFree 플라스미드 키트(Qiagen)를 사용하여 200 ml 박테리아 배양물로부터 정제하였다. 폴리A 꼬리의 하류에 있는 플라스미드를 선형화하기 위해 벡터를 SapI로 BamI로 분해하였다. 선형화된 벡터를 페놀/클로로포름 DNA 추출을 사용하여 정제하였다. 시험관 내 전사는 HiT7 T7 RNA 중합효소(New England Biolabs)를 사용하여 50°C에서 1시간 동안 수행하였다. 시험관 내 전사된 mRNA를 37°C에서 10분 동안 DNase로 처리하고, MEGAclear 전사 클린업 키트(Thermo Fisher)를 사용하여 mRNA를 정제하였다. mRNA를 260 nm에서의 흡광도에 의해 정량화하고, 그 크기 및 순도를 자동화된 전기영동(TapeStation, Agilent)에 의해 평가하여, 예상 크기인 것을 입증하였다.

[0156] 실시예 6 - Hepa1-6 세포의 형질감염 및 알부민 표적화

[0157] 다음과 같이, 300 ng의 mRNA 및 350 ng의 서열번호 67~86의 각 단일 가이드 RNA(sgRNA)를 Hepa1-6 세포 내로 공동 형질감염시켰다. 형질감염 1일 전, Hepa1-6 세포를 24시간 후에 70%의 컨플루언시에 도달하는 밀도로 24 웰에 시딩하였다. 다음 날, 25 µl의 OptiMEM 배지 및 1.25 µl의 Lipofectamine Messenger Max 용액(Thermo Fisher)을 혼합하고 5초 동안 와동시켜 용액 A를 만들었다. 별도의 튜브에서, 300 ng의 MG3-6+MG3-4 키메라 mRNA와 350 ng의 단일 가이드를 25 µl의 OptiMEM과 함께 혼합하여 용액 B를 만들었다. 용액 A와 용액 B를 혼합하고 실온에서 10분 동안 인큐베이션한 다음 Hepa1-6 세포에 직접 첨가하였다. 형질감염 후 2일차에, 배지를 흡입하고, Purelink Genomic DNA 미니 키트(Thermo Fisher)의 지침에 따라 게놈 DNA를 정제하였다(도 9 참조). 결과는, 성능이 가장 뛰어난 sgRNA가 g87(서열번호 72) 및 g34(서열번호 70)로 지정된 것들이며, gRNA g45(서열번호 67), g44(서열번호 71), g59(서열번호 76), g78(서열번호 68), g84(서열번호 79), 및 g33(서열번호 80)에 대해서도 주목할 만한 편집이 일어났음을 나타낸다.

[0158] 실시예 7 - 게놈 편집된 샘플의 생거 시퀀싱

[0159] 단일 가이드 RNA(예를 들어, 알부민 유전자)에 의해 표적화된 게놈 영역의 측면에 위치하는 프라이머를 설계하였다. 프라이머 57F(서열번호 97) 및 1072R(서열번호 98)을 사용하는 PCR 증폭을 Phusion Flash High-Fidelity PCR Master Mix(Thermo Fisher)를 사용해 수행하여 1016 bp의 PCR 산물을 획득하였다. DNA 세정 및 농축기 5(DNA clean & concentrator 5, Zymo Research)를 사용해 PCR 산물을 정제하여 농축시키고, 8 pmol의 개별 시퀀싱 프라이머(132F, 282F, 446R, 및 460F, 서열번호 99~102)를 사용해 100 ng의 PCR 산물을 생거 시퀀싱(ELIM Biosciences)하였다. CRISPR 편집의 추론(Inference of CRISPR edits)(<https://github.com/synthego-open/ice>에서 이용 가능함)이라는 알고리즘을 사용하여 생거 시퀀싱 결과를 분석하고, GradPrism을 사용하여 데이터를 도표화하였다(도 9b 참조).

[0160] 실시예 8 - mRNA 형질감염을 사용하여 마우스 HAO-1 유전자에 대한 MG3-6/3-4 뉴클레아제 가이드 스크리닝하기

[0161] PAM 서열 3' NNA(A/T)N 5' 를 검색함으로써, 마우스 HAO-1 유전자(글리콜레이트 옥시다아제를 암호화함)의 엑손 1 내지 4를 표적화하는 MG3-6/3-4 뉴클레아제에 대한 가이드 RNA를 가상 환경에서 식별하였다. 마우스 게놈에서 예측된 오프-타겟 부위가 가장 적은 총 23개의 가이드를 단일 가이드 RNA로서 화학적으로 합성하였다. 300 ng mRNA 및 120 ng 단일 가이드 RNA를 다음과 같이 Hepa1-6 세포 내로 형질감염시켰다. 형질감염 하루 전에, 페니실린/스트렙토마이신이 없고 DMEM, 10% FBS, 1xNEAA 배지에서 10일 미만 동안 배양한 Hepa1-6 세포를 TC-처리한 24 웰 플레이트 내에 시딩하였다. 세포를 계수하고, 60,000개의 생존 세포에 해당하는 부피를 각 웰에 첨가하였다. 추가의 사전 평형화된 배지를 각 웰에 첨가하여 총 부피를 500 µL로 만들었다. 형질감염 당일, 25 µL의 OptiMEM 배지 및 1.25 µL의 Lipofectamine Messenger Max 용액(Thermo Fisher)을 마스터믹스 용

액에서 혼합하고, 와동시키고, 실온에서 적어도 5분 동안 방치하였다. 별도의 튜브에서, 300 ng의 MG3-6-MG-3-4-암호화 mRNA(서열번호 108) 및 120 ng의 sgRNA(스캐폴드 서열, 서열번호 34)를 25 μ L의 OptiMEM 배지와 함께 혼합하고, 잠깐 동안 와동시켰다. 적절한 부피의 MessengerMax 용액을 각각의 RNA 용액에 첨가하고, 튜브를 가볍게 흔들어 혼합하고, 저속으로 잠깐 회전시켰다. 완전한 편집 시약 용액을 실온에서 10분 동안 인큐베이션 한 다음, Hepa1-6 세포에 직접 첨가하였다. 형질감염 후 2일차에, Hepa1-6 세포의 각 웰로부터 배지를 흡인하고, MagMAX™ DNA Multi-Sample Ultra 2.0 키트가 구비된 KingFisher Flex를 통해 자동화된 자기 비드 정제에 의해 게놈 DNA를 정제하였다. 가이드의 활성은 표 2 및 3에 요약되어 있고, 사용된 프라이머는 표 4에 요약되어 있다.

표 2

[0162]

mRNA 형질감염에 의해 전달된 마우스 HA01에서 MG3-6/3-4 가이드의 평균 활성				
가이드 명칭	PAM	서열번호	스페이서 서열	활성 편집 (평균 INDEL (%))
mH364-1	GCAAATG	611	GTATGACTATTACAGGTCTGGG	0
mH364-2	GAAAATG	612	AAATAGCAAAGTTTCTTACCTA	0
mH364-3	AGAAAAT	613	TAAATAGCAAAGTTTCTTACCT	0
mH364-6	CTAAAC	614	ATTGGCATGCTGACTCTCTGTC	0
mH364-7	AGAAAAG	615	GAGCTGGCCACTGTGCGAGGTA	45.7
mH364-9	ACAAATA	616	CAGGTAAGGGGTGCCACAGTC	0
mH364-10	TGAAAA	617	ATTCTATGTATCTATTCTAGGA	0
mH364-11	GAAAAC	618	TTCTATGTATCTATTCTAGGAT	31
mH364-15	CCAAATC	619	AAATTTCCCTTAGGAGAAAATG	0
mH364-16	GAAAATG	620	GTCTCCAAAATTTCCCTTAGGA	10.7
mH364-17	AGAAAAT	621	TGTCTCCAAAATTTCCCTTAGG	0
mH364-18	GGAAATT	622	TGATTTGGCATTTTCTCCTAAG	0
mH364-19	CAAAATT	623	TCAGCAAGTCCACTGTTGTCTC	0
mH364-20	CCAAAAT	624	TTCAGCAAGTCCACTGTTGTCT	25.9
mH364-22	CAAAATG	625	AGTAGAGAAATGACAAACCTCT	0
mH364-23	TCAAAT	626	AAGTAGAGAAATGACAAACCTC	20.7

표 3

[0163]

mRNA 형질감염에 의해 전달된 마우스 HA01에서, 더 허용 가능한 PAM 설계를 갖는 MG3-6/3-4 가이드의 시험 결과					
가이드 명칭	PAM	서열번호	스페이서 서열	활성 편집 (인텔 (%))	R ²
mH364-4	AGAAACT	627	ACATCCAAGCATTTTCTAGGTA	0	1
mH364-5	TAAACA	628	TTGGCATGCTGACTCTCTGTCC	0	1
mH364-8	ACAAAGA	629	CGCTGGATGCAACTGTACATCT	0	0.99
mH364-12	AAAAACT	630	TCTATGTATCTATTCTAGGATG	0	0.99
mH364-13	TGAAACC	631	TCTATTCTAGGATGAAAACTT	0	0.99
mH364-14	TCAAAGT	632	AGAAAATGCCAAATCATTTGGTT	0	0.99
mH364-21	GTAAGG	633	ATTGACATCACTGCCTATTGTT	0	1

표 4

[0164]

마우스 HA01 유전자용으로 설계되어, 컷 4개의 엑손 각각에서의 PCR 및 생거 시퀀싱에 사용되는 프라이머.				
표적 엑손	용도	프라이머 명칭	서열번호	프라이머 서열
마우스 HA01 엑손 1	순방향 PCR	PCR_mHE1_F_+233	634	GTGACCAACCCTACCCGTTT
	역방향 PCR	PCR_mHE1_R_-553	635	GCAAGCACCTACTGTCTCGT
	시퀀싱	Seq_mHE1_F_+139	636	GTCTAGGCATACAATGTTTGCTCA

마우스 HA01 엑손 2	순방향 PCR	HA01_E2_F5721	637	CAACGAAGGTTCCCTCCAGG
	역방향 PCR	HA01_E2_R6271	638	GGAAGGGTGTTCGAGAAGGA
	시퀀싱	5938F Seq_HA01_E2	639	CTATGCAAGGAAAAGATTTGGCC
마우스 HA01 엑손 3	순방향 PCR	HA01_E3_F23198	640	TGCCCTAGACAAGCTGACAC
	역방향 PCR	HA01_E3_R23879	641	CAGATTCTGGAAGTGGCCCA
	시퀀싱	HA01_E3_F23198	642	순방향 PCR 프라이머와 동일
마우스 HA01 엑손 4	순방향 PCR	PCR_mHE4_F_+300	643	GGCTGGCTGAAAATAGCATCC
	역방향 PCR	HA01_E4_R31650	644	AGGTTTGGTTCCTCACCT
	시퀀싱	PCR_mHE4_R_-149	645	TCTGCCATGAAGGCATATGGAC

[0165] 실시예 9 - MG3-6/3-4 및 MG3-6 II형 뉴클레아제에 대한 가이드 화학물질의 최적화

[0166] 40개의 상이한 화학적으로 변형된 가이드(mA1b3634-34-0 내지 mA1b3634-34-44로 명명됨)를 설계하고 이들 가이드 중 39개의 활성을 시험하였다. 하나의 가이드 mH3634-34-32는 RNA 합성에 실패하였으므로, 시험하지 않았다. 다양한 화학적 변형을 삽입하기 위한 모델로서 선택한 가이드 스페이서 서열은 mA1b3634-34였는데(표적화 알부민 인트론 1), 이는 이 서열이 마우스 간세포 세포주 Hepa1-6 세포를 대상으로 한 가이드 스크리닝에서 가장 활성인 가이드로 입증되었기 때문이다(표 5 및 도 10).

표 5

[0167]

가이드	편집 활성 (인텔 (%))
mA1b3634-13	0
mA1b3634-16	0
mA1b3634-19	0
mA1b3634-20	0
mA1b3634-24	0
mA1b3634-30	0
mA1b3634-45	19.5
mA1b3634-44	16.5
mA1b3634-53	0
mA1b3634-59	22
mA1b3634-64	0
mA1b3634-72	0
mA1b3634-73	0
mA1b3634-74	0
mA1b3634-78	9
mA1b3634-81	2
mA1b3634-84	15
mA1b3634-87	49
mA1b3634-34	62
mA1b3634-33	20.5

[0168] MG3-6/3-4의 sgRNA는 5' 말단에 위치한 스페이서에 이어서 CRISPR 반복 및 트랜스-활성화 CRISPR RNA(tracr)를 포함한다. CRISPR 반복 및 tracr은 MG3-6 뉴클레아제의 CRISPR 반복 및 tracr과 동일하다(도 11a, 11b). CRISPR 반복 및 tracr은 3개의 줄기 루프를 포함하는 구조화된 RNA를 형성한다(도 11a). 리보오스의 2' 하이드록실을 메틸기로 치환하거나 포스포디에스테르 백본을 포스포로티오에이트(PS)로 치환함으로써 줄기 루프의 상이한 영역을 변형시켰다. 또한, 가이드의 5'에 있는 스페이서를 2'-O-메틸 또는 2'-플루오린 염기와 PS 결합의 혼합물로 변형시켰다. 설계된 화학적 변형의 상이한 조합은 mA1b3634-34-0 내지 mA1b3634-34-44로 부르며, 그 서열은 표 6에 나타나 있다.

[0169] 염기 서열은 정확히 동일하지만 화학적 변형은 상이한 39개의 단일 가이드의 편집 활성을, MG3-6/3-4 및 가이드를 암호화하는 mRNA의 공동 형질감염에 의해 Hepa1-6 세포에서 평가하였으며; 그 결과는 표 6 및 도 12에 나타나 있다.

표 6

[0170] 화학적으로 변형된 MG3-6/3-4 가이드의 서열, 및 MG3-6/3-4 mRNA로 공동 형질감염한 Hepa1-6 세포에서 이들의 활성

가이드	서열번호	서열	활성
mAlb3634-34-0	646	rCrUrUrArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrUrUrU	71.8
mAlb3634-34-1	647	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	124.5
mAlb3634-34-2	648	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	121.7
mAlb3634-34-3	649	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrUrUrGrArGmAmAmUmCmGmAmAmAmGmAmUmUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	120.5
mAlb3634-34-4	650	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrUrUrGrArG*mA*mA*mU*mC*mG*mA*mA*mA*mG*mA*mU*mUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	63.3
mAlb3634-34-5	651	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrArAmGmUmGmAmGmAmUmCmGmAmAmAmGmAmUmUmCmUmUmAmArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	0.8
mAlb3634-34-6	652	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrArAmGmUmUmGmAmGmAmUmCrG*rA*rA*rA*mGmAmUmUmCmUmUmAmArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	0.0
mAlb3634-34-7	653	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArAmGmGmCmAmUmCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	113.0
mAlb3634-34-8	654	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArAmGmGmCmAmUmCrC*rU*rU*rC*rGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	115.6
mAlb3634-34-9	655	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCmGmAmAmArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCmCmUmCmCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCmAmUmArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	105.0
mAlb3634-34-10	656	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrG*rA*rA*rA*rGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrC*rU*rU*rC*rC*rGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	101.6
mAlb3634-34-11	657	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCmAmUmArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	57.0
mAlb3634-34-12	658	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArArGrArAmGmUmUmGmAmGmAmUmCrG*rA*rA*rA*rGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU	0.0

mAlb3634-34-34	685	mC*mU*mU*mA*i2FGi2FGi2FUi2FCi2FAi2FGi2FUi2FGi2FAi2FAi2FGi2FAi2FG rArArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrG*rA*rA*rA*rGrArUrUrCrUrUrArArUrA rArGrGrCrArUrCrC*rU*rU*rC*rC*rGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCr GrUrCrCrGrUrUrUrCrCrA*rA*rU*rA*rGrGrArGrCrGrGrGrGrGrUrA*mU*m G*mU*mU*mU*mU	68.9
mAlb3634-34-35	686	mC*mU*mU*mA*rGrGrUrCrArGrUrGrArGrArGrArGrArGrArGrUrUrGrArGrArA rUrCmG*mA*mA*mA*rGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCmC*mU*mU*mC* mC*rGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrCrCmA*mA *mU*mA*rGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrA*mU*mG*mU*mU*mU*mU	65.0
mAlb3634-34-36	687	mC*mU*mU*mA*rGrGrUrCrArGrUrGrArGrArGrArGrArGrArAmGmUmUmGmAmGmA mUmCrG*rA*rA*rA*rGrArUrUrCrUrUrArArUrArAmGmGmCmAmUmCrC*rU*rU*rC* rC*rGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrA*rA *rU*rA*rGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrA*mU*mG*mU*mU*mU*mU	0.0
mAlb3634-34-37	688	mC*mU*mU*mA*rGrGrUrCrArGrUrGrArGrArGrArGrArGrArAmGmUmUmGmAmGmA mUmCrG*rA*rA*rA*rGrArUrUrCrUrUrArArUrArAmGmGmCmAmUmCrC*rU*rU*rC* rC*rGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCmAmCmCmGmUmCmCmUmUmUmUmCmCrA*rA *rU*rA*rGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrA*mU*mG*mU*mU*mU*mU	0.0
mAlb3634-34-38	689	mC*mU*mU*mA*rGrGrUrCrArGrUrGrArGrArGrArGrArGrArAmGmUmUmGmAmGmA mUmCrG*rA*rA*rA*rGrArUrUrCrUrUrArArUrArAmGmGmCmAmUmCrC*rU*rU*rC* rC*rGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCmGmUmCmCmUmUmUmUmCmCrA*rA *rU*rA*mGmAmGmCmGmGmCmGrGrUrA*mU*mG*mU*mU*mU*mU	0.0
mAlb3634-34-39	690	mC*mU*mU*mA*rGrGrUrCrArGrUrGrArGrArGrArGrArGrArGrUrUrGrArGmA mUmCrG*rA*rA*rA*rGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrC*rU*rU*rC* rC*rGrArUrGrCrUrG*rA*rC*rU*rU*rC*rU*rC*rArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUr CrCrA*rA*rU*rA*rGrGrArGrCrGrGrGrGrGrUrA*mU*mG*mU*mU*mU*mU	3.7
mAlb3634-34-40	691	mC*mU*mU*mA*rGrGrUrCrArGrUrGrArGrArGrArGrArGrArGrUrUrGrArGmA mUmCrG*rA*rA*rA*mGmAmUmUrCrUrUrArAmAmAmGmCmAmUmCrC*rU*rU*rC* rC*mGmAmUmGmCrU*rG*rA*mCmUmUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrCrCrA *rA*rU*rA*rGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrA*mU*mG*mU*mU*mU*mU	0.0
mAlb3634-34-41	692	mC*mU*mU*mA*rGrGrUrCrArGrUrGrArGrArGrArGrArGrArGrUrUrGrArGmA mUmCrG*rA*rA*rA*rGrArUrUrCrUrUrArArUrArAmGmGmCmAmUmCrC*rU*rU*rC* rC*rGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCmAmCmCmGmUmCmCmUmUmUmUmCmCrA*rA *rU*rA*rGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrA*mU*mG*mU*mU*mU*mU	47.1
mAlb3634-34-42	693	mC*mU*mU*mA*i2FGi2FGi2FUi2FCi2FAi2FGi2FUi2FGi2FAi2FAi2FGi2FAi2FG i2FAi2FAi2FGi2FArArGrUrUrGrArGrArArUrCrG*rA*rA*rA*rGrArUrUrCrUrU rArArUrArArGrGrCrArUrCrC*rU*rU*rC*rC*rGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrA*rA*rU*rA*rGrGrArGrCrGrGrCrGrGrGr UrA*mU*mG*mU*mU*mU*mU	66.7
mAlb3634-34-43	694	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArGrArGrUrUrGrArGrArAr UrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUr GrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrAmGmGmAm GmCmGmGmCmGmUmA*mU*mG*mU*mU*mU*mU	73.8
mAlb3634-34-44	695	mC*mU*mU*rArGrGrUrCrArGrUrGrArArGrArGrArGrArGrUrUrGrArGrArAr UrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUr GrCrUrGrArCrUrUrCrUrCmAmCmCmGmUmCmCmUmUmUmUmCmCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrA*mU*mG*mU*mU*mU*mU	84.9
(r = 고유 리보오스 염기, m = 2' -O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에 이트 결합)			

[0171]

동일한 염기 서열 및 AltR1/AltR2로 불리는 상업적으로 이용가능한 화학적 변형을 갖는 가이드를 대조군으로서 사용하였다. 이들 가이드 내의 스페이서 서열은 마우스 계놈의 알부민 인트론1 내의 22-뉴클레오티드 영역을 표 적화한다. 가이드 mAlb3634-34-0(화학적 변형 없음)은 AltR1/AltR2 가이드에 대비 72% 활성을 나타냈다. 가이드 mAlb3634-34-1은 AltR1/AltR2 가이드 대비 124%의 활성을 나타냈는데, 이는 편집을 위해서는 가이드의 안정성이 중요하고, mAlb3634-34-1은 mAlb3634-34-0보다 더 안정적임을 보여준다(도 13 및 도 14). 중요하게는, mAlb3634-34-17은 AltR1/AltR2 대비 147%의 활성을 유지하였다. 스페이서에 2' -O-플루오린을 혼입하자 mAlb3634-34-35의 안정성이 크게 증가하였고, 가이드는 65% 활성을 유지하였다. mAlb3634-34-35는 MG3-6/3-4 가이드의 3개의 줄기 루프의 루프 내에 2' -O-메틸 및 PS 결합을 함유한다. 중요하게는, mAlb3634-34-42가 66% 의 활성을 유지하였고, 이 가이드는 mAlb3634-34-17만큼 많은 플루오린을 스페이서에 함유하지만, 이는 gRNA에 존재하는 모든 루프에 PS 결합도 함유한다는 것이다. mAlb3634-34-27은 67% 활성을 유지하였고, mAlb3634-34-29는 114% 활성을 유지하였다. 이들 가이드가 함유한 변형 중에는, mAlb3634-34-27 및 mAlb3634-34-29 각각에 대한 제1 줄기 루프의 루프 내 PS 결합 및 제1 줄기 루프의 제1 가닥 내 2' -O-메틸기가 있다. 이들 2개의 변형

을 조합했을 때(제1 줄기 루프의 제1 가닥 내 2' -O-메틸 및 제1 줄기 루프의 루프 내 PS 결합), 가이드는 활성을 상실하였는데(mAlb3634-34-33, mAlb3634-34-36, mAlb3634-34-38), 이는 gRNA/단백질 상호작용의 복잡성을 나타내고, 단순 외삽의 결과를 예측하기 어렵다는 것을 나타낸다.

[0172] 화학적 변형이 없는 가이드(고유 RNA)와 비교하여 이들 화학적으로 변형된 가이드의 안정성을 시험하기 위해, 미정제 세포 추출물을 사용하여 안정성 검정을 사용하였다. 포유류 세포 유래의 미정제 세포 추출물을 선택한 이유는, 가이드 RNA가 시험관 내 또는 생체 내에서 포유류 세포에 전달될 때 이들 가이드 RNA가 노출될 뉴클레아제의 혼합물을 이들 미정제 세포 추출물이 함유하고 있기 때문이다. 15 cm의 컨플루언트 세포 접시 하나당 3 ml의 차가운 PBS를 첨가하고, 세포 스크래퍼를 사용하여 접시 표면으로부터 세포를 방출시켜 Hepa1-6 세포를 수집하였다. 세포를 200 g에서 10분 동안 펠릿화하고, 향후 사용을 위해 -80°C에서 동결시켰다. 안정성 검정을 위해, 세포를 4 부피의 차가운 PBS에 재현탁시켰다(예를 들어, 100 mg 펠릿의 경우, 세포를 400 ul의 차가운 PBS에 재현탁하였다). 트라이톤 X-100을 0.2% (v/v)의 농도까지 첨가하고, 세포를 10초 동안 와동시키고, 10분 동안 얼음 위에 두고, 10초 동안 다시 와동시켰다. 트라이톤 X-100은 세포막을 파괴하지만 사용된 농도에서 단백질을 불활성화하거나 변성시키지 않는 순한 비이온성 세제이다. 안정성 반응을 얼음 상에서 준비하였고, 20 µl의 세포 미정제 추출물과 2 pmol의 각 가이드(1 ul의 2 모액)를 포함시켰다. 가이드별로 다음을 포함하는 6가지 반응을 설정하였다: 투입, 0.5시간, 1시간, 4시간, 9시간, 및 일부 경우에는 21시간(시간으로 표시된 시간은 각 샘플을 인큐베이션하는 기간을 지칭함). 투입 대조군은 얼음 위에 5분 동안 방치하고, 샘플은 37°C에서 0.5시간 내지 최대 21시간 동안 인큐베이션하였다. 각 인큐베이션 기간 후, 페놀과 구아니딘 티오시아네이트의 혼합물(Tri 시약, Zymo Research) 300 ul를 첨가하여 반응을 중단시켰는데, 이는 모든 단백질이 즉시 변성시키고, 리보뉴클레아제를 효율적으로 억제하여 이어지는 RNA의 회수를 용이하게 한다. Tri 시약을 첨가한 후, 샘플을 15초 동안 와동시키고 -20°C에서 보관하였다. Direct-Zol RNA 미니분취 키트(Zymo Research)를 사용하여 샘플로부터 RNA를 추출하고, 100 ul의 뉴클레아제가 없는 물에서 용리하였다. 변형된 가이드의 검출은 Taqman miRNA 검정 기술(Thermo Fisher)을 사용하여 Taqman RT - qPCR을 사용하여 수행하였고, 프라이머 및 프로브는 모든 가이드에 대해 동일한 mAlb3634-34 sgRNA에서 서열을 특이적으로 검출하도록 설계되었다. 데이터는, 투입 샘플과 관련하여 남아있는 sgRNA의 백분율의 함수로서 도표화하였다(표 7 및 8; 도 13 및 도 14).

표 7

[0173]

화학적으로 변형된 MG3-6/3-4 가이드의 37°C에서 9시간 동안의 안정성				
	가이드 좌측 백분율			
시간 (시간)	mAlb3634-34-0	mAlb3634-34-1	mAlb3634-34-17	mAlb3634-34-29
0.5	48.6327474	71.6977624	84.9684999	91.383145
1	45.5334917	111.342162	69.2554734	79.8298386
4	8.33311673	84.3815796	46.6516496	58.2366793
9	1.23016871	41.3225159	36.6021424	16.5511114
시간 (시간)	mAlb3634-34-30	mAlb3634-34-35	mAlb3634-34-36	mAlb3634-34-42
0.5	86.7538687		91.7004043	91.7004043
1	90.1250463	146.40857	57.8344092	72.1964598
4	53.5886731	128.34259	61.985385	72.1964598
9	21.9912269	100	62.6332219	47.3028823

표 8

[0174]

화학적으로 변형된 MG3-6/3-4 가이드의 37°C에서 21시간 동안의 안정성				
	가이드 좌측 백분율			
시간 (시간)	mAlb3634-34-0	mAlb3634-34-1	mAlb3634-34-35	mAlb3634-34-42
0.5	68.3020128	61.98539	104.6085	80.94422
1	51.0506063	59.66679	84.08964	73.20428
4	9.67228121	51.05061	52.66805	70.71068
9	1.75790388	40.47211	51.22784	45.37596
21	0.03405136	1.447794	24.82731	15.60413

[0175] 안정성 검정은, 가이드의 5' 및 3' 말단에 3개의 2'-O-메틸 및 3개의 PS 결합을 도입함으로써 안정성이 상당히 개선되었음을 보여주었다(도 13 및 도 14 참조). mA1b3634-17 및 mA1b3634-42에서와 같이 5' 및 3' 변형에 추가 2'-플루오르를 첨가하는 것은 도 13에 도시된 바와 같이 초기 시점(최대 9시간)에 명백한 이점을 나타내지 않았지만, 안정성 검정을 21시간 동안 실행했을 때 약간의 안정성 개선이 명백하였다(도 14 참조). 도 13에서 알 수 있듯이, 줄기 루프의 모든 루프에 2-O-메틸 및 PS 결합을 포함시키는 것(mA1b3634-35)은 5' 및 3' 단부 상에 화학적 변형을 갖는 가이드(mA1b3634-1)와 비교했을 때 안정성에 있어서 명백하게 더 큰 증분을 제공하였다. 그러나, 도 14에서 알 수 있듯이, 이들 결과는 반복되었고, 더 긴 시점에는 이러한 증분이 초기 시점에는 덜 명백해졌고, 최대 21시간 시점의 더 긴 시점에는 명백해졌다. mA1b3634-0 및 mA1b3634-29 및 mA1b3634-30을 비교함으로써 나타난 것과 같이, 구별되는 줄기 루프의 첫 번째 가닥에 2'-O-메틸을 포함시키는 것은 최대 9시간 동안 안정성에 이점을 제공하지 않았다. 모든 줄기 루프의 첫 번째 가닥에서의 2'-O-메틸과 모든 줄기 루프의 루프에서의 PS 결합의 조합을 갖는 mA1b3634-36은, 말단 변형된 가이드(mA1b3634-0)과 비교했을 때, 9시간 시점에 명백하게 증가된 안정성을 나타냈다. 그러나, 이 가이드는 Hepa1-6 세포에서 mRNA 형질감염을 통해 시험했을 때는 활성이 없었다. 일반적으로, 말단 변형된 가이드에 추가 변형(예: 2'-O-메틸, 2'-O-플루오르, 또는 PS 결합)을 첨가하는 것은 초기 시점 내지 최대 9시간까지 안정성에 있어서 큰 이점을 부여하지 않았고(도 13), 더 긴 시점에는 안정성에 있어서 약간의 증가가 명백하였다(도 14). 이러한 gRNA의 큰 크기(110 nt) 및 고도로 구조화된 성질은 더 짧거나 덜 구조화된 가이드 RNA보다 gRNA를 본질적으로 더 안정적이게 만들 수 있고, 이에 의해 안정성에 대한 화학적 변형의 이점을 제한할 수 있다. 가이드의 5' 및 3' 단부를 변형시키는 것은 뉴클레아제에 대한 양호한 수준의 보호를 제공하는 것으로 보인다. 그러나, 가이드에 추가의 변형을 추가하는 것은 생체 내에서 더 많은 이점을 제공할 수 있는데, 이는 이러한 유형의 변형이 면역원성을 감소시킬 수 있기 때문이다.

[0176] 실시예 10 - V-A형 뉴클레아제의 단백질 재조합

[0177] 신속하게 PAM을 교환하는 능력을 II형 뉴클레아제를 넘어서 확장하기 위해, 단백질 재조합을 위한 3개의 V-A형 뉴클레아제를 선택하였다. 중단점은 예측된 구조 정보에 기초하여 선택하였다(표 1). II형 효소 재조합체와 유사하게, V형 키메라는 단백질이 밀접하게 관련된 계열로부터 재조합될 때 활성을 나타냈다. 시험관 내 PAM 농축 및 NGS 분석은 키메라의 PAM이 C-말단 부모로부터 유전된다는 일관된 결과를 보여주었다. 중단점 최적화를 이용함으로써, 원위에서 관련된 계열로부터 단백질 재조합의 잠재적인 구조적 파괴를 피하는 것이 가능할 수 있다(도 15).

[0178] 실시예 11 - HEK293T 세포에서 TRAC에 대한 유전자 편집 결과의 DNA 수준에서의 분석

[0179] Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, 하기 표 7A에 기술된 sgRNA 및 서열번호 119~158을 포함하는 MG3-6/4 RNP(104 pmol 단백질/300 pmol 가이드)를 HEK293T 세포(200,000) 내로 뉴클레오펙션하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(도 16 참조). 결과는 sgRNA C1, F2, 및 B3이 인텔을 유도하는 데 가장 효과적이었고, sgRNA D2, H2, A3, 및 C3에 대해서도 주목할 만한 편집이 나타났음을 나타냈다.

[0180]

[표 7A]

실시에 11에 사용된 gRNA 및 표적화 서열

범주	서열 번호	명칭	서열
TRAC를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	119	MG3-6/3-4 TRAC A1	mG*mC*mC*rGrUrGrUrArCrCrArGrCrUrGrArGrArGrArCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	120	MG3-6/3-4 TRAC B1	mA*mU*mU*rCrArCrCrGrArUrUrUrGrArUrUrCrUrCrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	121	MG3-6/3-4 TRAC C1	mG*mA*mU*rUrCrUrGrArUrGrUrGrUrArUrArUrCrArCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	122	MG3-6/3-4 TRAC D1	mA*mA*mC*rArGrUrGrCrUrGrUrGrGrCrCrUrGrGrArGrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	123	MG3-6/3-4 TRAC E1	mG*mG*mC*rUrGrGrGrGrArArGrArArGrGrUrGrUrCrUrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	124	MG3-6/3-4 TRAC F1	mG*mU*mU*rUrUrGrUrCrUrGrUrGrArUrArUrArCrArCrArUrGrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	125	MG3-6/3-4 TRAC G1	mU*mU*mA*rCrUrUrUrGrUrGrArCrArCrArUrUrGrUrUrGrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	126	MG3-6/3-4 TRAC H1	mU*mU*mG*rUrGrArCrArCrArUrUrGrUrUrUrGrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	127	MG3-6/3-4 TRAC A2	mU*mG*mU*rGrArCrArCrArUrUrGrUrUrUrGrArGrArArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	128	MG3-6/3-4	mA*mU*mU*rUrGrUrUrUrGrArGrArArUrCrArArArArUrCrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0181]

범주	서열 번호	명칭	서열
하는 MG3-6/3-4 sgRNA		TRAC B2	rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	129	MG3-6/3-4 TRAC C2	mU*mU*mC*rCrUrGrUrGrArUrGrUrCrArArGrCrUrGrGrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	130	MG3-6/3-4 TRAC D2	mU*mC*mC*rUrGrUrGrArUrGrUrCrArArGrCrUrGrGrUrCrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	131	MG3-6/3-4 TRAC E2	mG*mU*mC*rArArGrCrUrGrGrUrCrGrArGrArArArGrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	132	MG3-6/3-4 TRAC F2	mA*mG*mC*rUrUrGrArCrArUrCrArCrArGrGrArArCrUrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	133	MG3-6/3-4 TRAC G2	mG*mA*mC*rArUrCrArCrArGrGrArArCrUrUrUrCrUrArArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	134	MG3-6/3-4 TRAC H2	mU*mU*mA*rCrArGrArUrArCrGrArArCrCrUrArArArCrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	135	MG3-6/3-4 TRAC A3	mA*mA*mA*rArCrCrUrGrUrCrArGrUrGrArUrUrGrGrGrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	136	MG3-6/3-4 TRAC B3	mG*mA*mU*rUrGrGrGrUrUrCrCrGrArArUrCrCrUrCrCrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	137	MG3-6/3-4 TRAC C3	mG*mG*mA*rArCrCrArArUrCrArCrUrGrArCrArGrGrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRAC 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	138	MG3-6/3-4 TRAC D3	mU*mU*mG*rArArGrUrUrUrArGrGrUrUrCrGrUrArUrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0182]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	139	MG3- 6/3-4 TRAC A1	GCCGTGTACCAGCTGAGAGACT
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	140	MG3- 6/3-4 TRAC B1	ATTCACCGATTTTGATTCTCAA
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	141	MG3- 6/3-4 TRAC C1	GATTCTGATGTGTATATCACAG
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	142	MG3- 6/3-4 TRAC D1	AACAGTGCTGTGGCCTGGAGCA
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	143	MG3- 6/3-4 TRAC E1	GGCTGGGAAGAAGGTGTCTTC
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	144	MG3- 6/3-4 TRAC F1	GTTTTGTCTGTGATATACACAT
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	145	MG3- 6/3-4 TRAC G1	TTACTTTGTGACACATTTGTTT
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	146	MG3- 6/3-4 TRAC H1	TTGTGACACATTTGTTTGAGAA
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	147	MG3- 6/3-4 TRAC A2	TGTGACACATTTGTTTGAGAAT
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	148	MG3- 6/3-4 TRAC B2	ATTTGTTTGAGAATCAAATCG
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	149	MG3- 6/3-4 TRAC C2	TTCCTGTGATGTCAAGCTGGTC
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	150	MG3- 6/3-4 TRAC D2	TCCTGTGATGTCAAGCTGGTCG
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	151	MG3- 6/3-4 TRAC E2	GTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCT

[0183]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	152	MG3-6/3-4 TRAC F2	AGCTTGACATCACAGGAACTTT
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	153	MG3-6/3-4 TRAC G2	GACATCACAGGAACTTTCTAAA
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	154	MG3-6/3-4 TRAC H2	TTACAGATACGAACCTAAACTT
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	155	MG3-6/3-4 TRAC A3	AAAACCTGTCAGTGATTGGGTT
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	156	MG3-6/3-4 TRAC B3	GATTGGGTTCCGAATCCTCCTC
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	157	MG3-6/3-4 TRAC C3	GGAACCCAATCACTGACAGGTT
TRAC 표적 부위의 DNA 서열	158	MG3-6/3-4 TRAC D3	TTGAAAGTTTAGGTTCTATCT
(r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합)			

[0184]

[0185] 실시예 12 - HEK293T 세포에서 B2M에 대한 유전자 편집 결과의 DNA 수준에서의 분석

[0186]

Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, 하기 표 7B에 기술된 sgRNA 및 서열번호 159~210을 포함하는 MG3-6/4 RNP(104 pmol 단백질/300 pmol 가이드)를 HEK293T 세포(200,000) 내로 뉴클레오펙션(nucleofection)하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독립적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다 (도 17 참조). 결과는 sgRNA A1, G1, B2, H2, 및 B4가 편집을 유도하는 데 가장 효과적이었음을 나타냈고, sgRNA C1, D1, A2, H1, E2, F2, G2, A3, C3, 및 D3에 대해서도 상당한 편집이 검출되었다.

[0187]

[표 7B]

실시예 12에 사용된 gRNA 및 표적화 서열

범주	서열 번호	명칭	서열
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	159	MG3-6/3-4 B2M A1	mU*mC*mA*rCrGrCrUrGrGrArUrArGrCrCrUrCrCrArGrGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	160	MG3-6/3-4 B2M B1	mG*mG*mU*rUrUrArCrUrCrArCrGrUrCrArUrCrCrArGrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	161	MG3-6/3-4 B2M C1	mA*mC*mU*rCrArCrGrUrCrArUrCrCrArGrCrArGrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	162	MG3-6/3-4 B2M D1	mU*mC*mA*rUrCrCrArGrCrArGrArArUrGrGrArArArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	163	MG3-6/3-4 B2M E1	mA*mG*mA*rGrArArUrGrGrArArArGrUrCrArArArUrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	164	MG3-6/3-4 B2M F1	mC*mG*mA*rCrArUrUrGrArArGrUrUrGrArCrUrUrArCrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0188]

범주	서열 번호	명칭	서열
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	165	MG3-6/3-4 B2M G1	mU*mU*mG*rArCrUrUrArCrUrGrArArGrArArUrGrGrArGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	166	MG3-6/3-4 B2M H1	mU*mU*mA*rCrUrGrArArGrArArUrGrGrArGrArGrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	167	MG3-6/3-4 B2M A2	mU*mA*mC*rUrGrArArGrArArUrGrGrArGrArGrArGrArArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	168	MG3-6/3-4 B2M B2	mA*mC*mU*rGrArArGrArArUrGrGrArGrArGrArGrArArUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	169	MG3-6/3-4 B2M C2	mU*mC*mU*rUrUrCrUrArUrCrUrCrUrUrGrUrArCrUrArCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	170	MG3-6/3-4 B2M D2	mU*mA*mC*rUrArCrArCrUrGrArArUrUrCrArCrCrCrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	171	MG3-6/3-4 B2M E2	mA*mC*mU*rArCrArCrUrGrArArUrUrCrArCrCrCrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	172	MG3-6/3-4 B2M F2	mC*mU*mA*rCrArCrUrGrArArUrUrCrArCrCrCrCrArCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	173	MG3-6/3-4 B2M G2	mA*mU*mA*rCrUrCrArUrCrUrUrUrUrCrArGrUrGrGrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	174	MG3-6/3-4 B2M H2	mG*mA*mA*rUrUrCrArGrUrGrUrArGrUrArCrArArGrArGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	175	MG3-6/3-4 B2M A3	mG*mA*mG*rArUrArGrArArArGrArCrCrArGrUrCrCrUrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0189]

번호	서열 번호	명칭	서열
MG3-6/3-4 sgRNA			rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	176	MG3-6/3-4 B2M B3	mC*mA*mG*rUrCrCrUrUrGrCrUrGrArArArGrArCrArArGrUrUrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	177	MG3-6/3-4 B2M C3	mA*mG*mU*rCrArArCrUrUrCrArArUrGrUrCrGrGrArUrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	178	MG3-6/3-4 B2M D3	mA*mA*mA*rCrCrArGrArCrArCrArUrArGrCrArArUrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	179	MG3-6/3-4 B2M E3	mA*mA*mC*rCrCrArGrArCrArCrArUrArGrCrArArUrUrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	180	MG3-6/3-4 B2M F3	mC*mU*mG*rCrUrGrGrArUrGrArCrGrUrGrArGrUrArArArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	181	MG3-6/3-4 B2M G3	mA*mC*mC*rUrGrArArUrCrUrUrUrGrGrArGrUrArCrCrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	182	MG3-6/3-4 B2M H3	mU*mG*mC*rUrGrCrUrUrArCrArUrGrUrCrUrCrGrArUrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	183	MG3-6/3-4 B2M A4	mG*mC*mU*rGrCrUrUrArCrArUrGrUrCrUrCrGrArUrCrUrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	184	MG3-6/3-4 B2M B4	mC*mU*mG*rCrUrArArCrArUrGrUrCrUrCrGrArUrCrUrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
B2M 표적 부위의 DNA 서열	185	MG3-6/3-4 B2M A1	TCACGCTGGATAGCCTCCAGGC
B2M 표적 부위의 DNA 서열	186	MG3-6/3-4 B2M B1	GGTTTACTCACGTCATCCAGCA

[0190]

범주	서열 번호	명칭	서열
B2M 표적 부위의 DNA 서열	187	MG3-6/3-4 B2M C1	ACTCACGTCATCCAGCAGAGAA
B2M 표적 부위의 DNA 서열	188	MG3-6/3-4 B2M D1	TCATCCAGCAGAGAATGGAAAG
B2M 표적 부위의 DNA 서열	189	MG3-6/3-4 B2M E1	AGAGAATGGAAAGTCAAATTC
B2M 표적 부위의 DNA 서열	190	MG3-6/3-4 B2M F1	CGACATTGAAGTTGACTTACTG
B2M 표적 부위의 DNA 서열	191	MG3-6/3-4 B2M G1	TTGACTTACTGAAGAATGGAGA
B2M 표적 부위의 DNA 서열	192	MG3-6/3-4 B2M H1	TTACTGAAGAATGGAGAGAGAA
B2M 표적 부위의 DNA 서열	193	MG3-6/3-4 B2M A2	TACTGAAGAATGGAGAGAGAAT
B2M 표적 부위의 DNA 서열	194	MG3-6/3-4 B2M B2	ACTGAAGAATGGAGAGAGAATT
B2M 표적 부위의 DNA 서열	195	MG3-6/3-4 B2M C2	TCTTTCTATCTCTTGACTACA
B2M 표적 부위의 DNA 서열	196	MG3-6/3-4 B2M D2	TACTACTGAATTCACCCCCA
B2M 표적 부위의 DNA 서열	197	MG3-6/3-4 B2M E2	ACTACTGAATTCACCCCAC
B2M 표적 부위의 DNA 서열	198	MG3-6/3-4 B2M F2	CTACTGAATTCACCCCCT
B2M 표적 부위의 DNA 서열	199	MG3-6/3-4 B2M G2	ATACTCATCTTTTCAGTGGGG
B2M 표적 부위의 DNA 서열	200	MG3-6/3-4 B2M H2	GAATTCAGTGTAGTACAAGAGA
B2M 표적 부위의 DNA 서열	201	MG3-6/3-4 B2M A3	GAGATAGAAAGACCAGTCCTTG
B2M 표적 부위의 DNA 서열	202	MG3-6/3-4 B2M B3	CAGTCCTTGCTGAAAGACAAGT

[0191]

범주	서열 번호	명칭	서열
B2M 표적 부위의 DNA 서열	203	MG3-6/3-4 B2M C3	AGTCAACTTCAATGTCGGATGG
B2M 표적 부위의 DNA 서열	204	MG3-6/3-4 B2M D3	AAACCCAGACACATAGCAATTC
B2M 표적 부위의 DNA 서열	205	MG3-6/3-4 B2M E3	AACCCAGACACATAGCAATTCA
B2M 표적 부위의 DNA 서열	206	MG3-6/3-4 B2M F3	CTGCTGGATGACGTGAGTAAAC
B2M 표적 부위의 DNA 서열	207	MG3-6/3-4 B2M G3	ACCTGAATCTTTGGAGTACCTG
B2M 표적 부위의 DNA 서열	208	MG3-6/3-4 B2M H3	TGCTGCTTACATGTCTCGATCT
B2M 표적 부위의 DNA 서열	209	MG3-6/3-4 B2M A4	GCTGCTTACATGTCTCGATCTA
B2M 표적 부위의 DNA 서열	210	MG3-6/3-4 B2M B4	CTGCTTACATGTCTCGATCTAT
(r = 고유리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합)			

[0192]

[0193]

실시예 13 - T 세포에서 TRAC에 대한 유전자 편집 결과의 DNA 및 표현형 수준에서의 분석

[0194]

제조사사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, 표 7A에 기술된 sgRNA 및 서열번호 119~158을 포함하는 MG3-6/4 RNP(104 pmol 단백질/120 pmol 가이드)를 T 세포(200,000) 내로 뉴클레오펙션하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독립적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다. 유세포 측정법에 의한 분석을 위해, 뉴클레오펙션 후 3일차에, 항-CD3 항체로 100,000개의 T 세포를 4°C에서 30분 동안 염색하고, Attune Nxt 유세포 측정기를 이용해 분석하였다(도 18). 결과는, sgRNA C1, D2, F2, H2, A3, B3, C3, 및 D3이 주목할 만한 편집을 나타냈고, 대부분의 편집은 sgRNA C1 및 B3에 의해 수행되었음을 나타냈다.

[0195]

실시예 14 - T 세포에서 B2M에 대한 유전자 편집 결과의 DNA 수준에서의 분석

[0196]

제조사사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, 표 7B에 기술된 sgRNA 및 서열번호 159~210을 포함하는 MG3-6/4 RNP(104 pmol 단백질/120 pmol 가이드)를 T 세포(200,000) 내로 뉴클레오펙션하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독립적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(도 19).

[0197]

실시예 15 - T 세포에서 TRBC1 및 TRBC2에 대한 유전자 편집 결과의 표현형 수준에서의 분석

[0198]

제조사사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, 아래 표 7C에 기술된 sgRNA 및 서열번호 211~382를 포함하는 MG3-6/4 RNP(104 pmol 단백질/120 pmol 가이드)를 T 세포(200,000) 내로 뉴클레오펙션하였다. 유세포 측정법에 의한 분석을 위해, 뉴클레오펙션 후 3일차에, 항-CD3 항체로 100,000개의 T 세포를 4°C에서 30분 동안 염색하고, Attune Nxt 유세포 측정기를 이용해 분석하였다(도 20). 도 20의 결과로부터 알 수 있듯이, TRBC1에 대한 최고 성능의 sgRNA는 A1, B1, E1, G4, H4, 및 B5였다. 유사하게, TRBC2에 대한 최고 성능의 sgRNA는 D1, H1, 및 A5였다.

[0199]

[표 7C]

실시예 15에 사용된 gRNA 및 표적화 서열

범주	서열 번호	명칭	서열
TRBC1을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	211	MG3-6/3-4 TRBC1 A1	mC*mA*mG*rArArGrCrArGrArGrArUrCrUrCrCrArCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	212	MG3-6/3-4 TRBC1 B1	mC*mC*mA*rCrGrUrGrGrArGrCrUrGrArGrCrUrGrGrUrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	213	MG3-6/3-4 TRBC1 C1	mA*mG*mU*rCrCrArGrUrUrCrUrArCrGrGrGrCrUrCrUrCrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	214	MG3-6/3-4 TRBC1 D1	mG*mA*mU*rUrArGrGrUrGrArGrArCrCrArGrCrUrArCrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	215	MG3-6/3-4 TRBC1 E1	mA*mU*mU*rArGrGrUrGrArGrArCrCrArGrCrUrArCrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	216	MG3-6/3-4 TRBC1 F1	mU*mU*mA*rGrGrUrGrArGrArCrCrArGrCrUrArCrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0200]

번호	서열 번호	명칭	서열
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	217	MG3-6/3-4 TRBC1 G1	mU*mG*mA*rGrArCrCrArGrCrUrArCrCrArGrGrArArArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	218	MG3-6/3-4 TRBC1 H1	mC*mA*mG*rGrUrArGrCrArGrArCrArArGrArCrUrArGrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	219	MG3-6/3-4 TRBC1 A2	mA*mG*mG*rUrArGrCrArGrArCrArArGrArCrUrArGrArUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	220	MG3-6/3-4 TRBC1 B2	mA*mG*mC*rArGrArCrArArGrArCrUrArGrArUrCrCrArArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	221	MG3-6/3-4 TRBC1 C2	mG*mG*mA*rArCrCrArGrCrGrCrArCrArCrArUrGrArArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	222	MG3-6/3-4 TRBC1 D2	mG*mU*mG*rGrCrUrGrArCrArUrCrUrGrCrArUrGrGrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	223	MG3-6/3-4 TRBC1 E2	mG*mG*mC*rCrUrGrGrGrArGrUrCrUrGrUrGrCrCrArArCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	224	MG3-6/3-4 TRBC1 F2	mC*mU*mG*rArCrUrUrArCrUrUrUrArArUrUrGrCrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	225	MG3-6/3-4 TRBC1 G2	mU*mG*mA*rCrUrUrUrArCrUrUrUrArArUrUrGrCrCrUrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	226	MG3-6/3-4 TRBC1 H2	mG*mA*mC*rUrUrUrArCrUrUrUrArArUrUrGrCrCrUrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는	227	MG3-6/3-4	mG*mG*mG*rArArGrGrArGrArArGrCrUrGrGrArGrUrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU

[0201]

범주	서열 번호	명칭	서열
MG3-6/3-4 sgRNA		TRBC1 A3	rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	228	MG3-6/3-4 TRBC1 B3	mG*mG*mA*rArGrGrArGrArArGrCrUrGrGrArGrUrCrArCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	229	MG3-6/3-4 TRBC1 C3	mA*mA*mC*rUrCrCrUrGrGrCrUrCrUrUrArArUrArArCrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	230	MG3-6/3-4 TRBC1 D3	mA*mA*mC*rUrUrUrCrUrCrUrUrCrUrGrCrArGrGrUrCrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	231	MG3-6/3-4 TRBC1 E3	mA*mC*mU*rCrCrArCrUrUrCrCrArGrGrGrCrUrGrCrCrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	232	MG3-6/3-4 TRBC1 F3	mC*mU*mC*rCrArCrUrUrCrCrArGrGrGrCrUrGrCrCrUrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	233	MG3-6/3-4 TRBC1 G3	mU*mC*mC*rUrUrUrCrUrCrUrUrGrArCrCrUrGrCrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	234	MG3-6/3-4 TRBC1 H3	mA*mG*mC*rCrArGrGrArGrUrUrGrUrGrArGrGrArUrUrGrArGrUrUrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	235	MG3-6/3-4 TRBC1 A4	mA*mG*mU*rArGrUrArGrGrGrCrCrArUrUrGrArCrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	236	MG3-6/3-4 TRBC1 B4	mU*mG*mC*rArArGrUrUrArUrCrUrUrCrUrGrArGrGrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	237	MG3-6/3-4 TRBC1 C4	mA*mG*mU*rUrArUrCrUrUrCrUrGrArGrGrCrArCrCrUrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0202]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	238	MG3-6/3-4 TRBC1 D4	mG*mU*mU*rArUrCrUrUrCrUrGrArGrGrCrArCrCrUrGrArArGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	239	MG3-6/3-4 TRBC1 E4	mU*mC*mA*rArGrArArCrCrArUrGrArGrArGrArGrGrGrArGrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	240	MG3-6/3-4 TRBC1 F4	mC*mA*mA*rGrArArCrCrArUrGrArGrArGrArGrGrGrArGrArGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	241	MG3-6/3-4 TRBC1 G4	mU*mU*mA*rCrCrCrGrArGrGrUrArArArGrCrCrArCrArGrUrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	242	MG3-6/3-4 TRBC1 H4	mC*mC*mG*rArGrGrUrArArArGrCrCrArCrArGrUrCrUrGrArGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	243	MG3-6/3-4 TRBC1 A5	mC*mA*mG*rUrCrUrGrArArArGrArArArGrCrArGrGrGrArGrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	244	MG3-6/3-4 TRBC1 B5	mA*mG*mU*rCrUrGrArArArGrArArArGrCrArGrGrGrArGrArGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	245	MG3-6/3-4 TRBC1 C5	mG*mU*mC*rUrGrArArArGrArArArGrCrArGrGrGrArGrArGrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	246	MG3-6/3-4 TRBC1 D5	mG*mA*mA*rArGrArArArGrCrArGrGrGrArGrArGrGrArArArGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	247	MG3-6/3-4 TRBC1 E5	mG*mA*mG*rArCrCrUrUrArUrUrUrUrCrArUrArGrGrCrArArGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는	248	MG3-6/3-4	mG*mA*mU*rGrArGrArGrUrUrArCrArCrArGrGrCrCrArCrArGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU

[0203]

범주	서열 번호	명칭	서열
MG3-6/3-4 sgRNA		TRBC1 F5	rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	249	MG3-6/3-4 TRBC1 G5	mA*mG*mC*rUrGrCrUrUrGrGrCrUrCrUrGrUrUrGrGrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	250	MG3-6/3-4 TRBC1 H5	mU*mG*mU*rUrGrGrGrCrUrGrArGrArArUrCrUrGrGrGrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	251	MG3-6/3-4 TRBC1 A6	mG*mG*mA*rArCrArCrUrUrGrUrUrCrArGrGrUrCrCrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	252	MG3-6/3-4 TRBC1 A1	CAGAAGCAGAGATCTCCACAC
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	253	MG3-6/3-4 TRBC1 B1	CCACGTGGAGCTGAGCTGGTGG
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	254	MG3-6/3-4 TRBC1 C1	AGTCCAGTTCTACGGGCTCTCG
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	255	MG3-6/3-4 TRBC1 D1	GATTAGGTGAGACCAGCTACCA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	256	MG3-6/3-4 TRBC1 E1	ATTAGGTGAGACCAGCTACCAG
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	257	MG3-6/3-4 TRBC1 F1	TTAGGTGAGACCAGCTACCAGG
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	258	MG3-6/3-4 TRBC1 G1	TGAGACCAGCTACCAGGAAAA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	259	MG3-6/3-4 TRBC1 H1	CAGGTAGCAGACAAGACTAGAT
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	260	MG3-6/3-4 TRBC1 A2	AGGTAGCAGACAAGACTAGATC

[0204]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	261	MG3- 6/3-4 TRBC1 B2	AGCAGACAAGACTAGATCCAAA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	262	MG3- 6/3-4 TRBC1 C2	GGAACCAGCGCACACCATGAAG
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	263	MG3- 6/3-4 TRBC1 D2	GTGGCTGACATCTGCATGGCAG
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	264	MG3- 6/3-4 TRBC1 E2	GGCCTGGGAGTCTGTGCCAACT
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	265	MG3- 6/3-4 TRBC1 F2	CTGACTTTACTTTTAATTGCCT
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	266	MG3- 6/3-4 TRBC1 G2	TGACTTTACTTTTAATTGCCTA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	267	MG3- 6/3-4 TRBC1 H2	GACTTTACTTTTAATTGCCTAT
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	268	MG3- 6/3-4 TRBC1 A3	GGGAAGGAGAAGCTGGAGTCAC
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	269	MG3- 6/3-4 TRBC1 B3	GGGAAGGAGAAGCTGGAGTCACC
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	270	MG3- 6/3-4 TRBC1 C3	AACTCCTGGCTCTTAATAACCC
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	271	MG3- 6/3-4 TRBC1 D3	AACTTTCTTTCTGCAGGTCAA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	272	MG3- 6/3-4 TRBC1 E3	ACTCCACTTCCAGGGCTGCCTT
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	273	MG3- 6/3-4 TRBC1 F3	CTCCACTTCCAGGGCTGCCTTC

[0205]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	274	MG3- 6/3-4 TRBC1 G3	TCCTTTCTCTTGACCTGCAGAA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	275	MG3- 6/3-4 TRBC1 H3	AGCCAGGAGTTGTGAGGATTGA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	276	MG3- 6/3-4 TRBC1 A4	AGTAGTAGGGCCCATTGACCAC
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	277	MG3- 6/3-4 TRBC1 B4	TGCAAGTTATCTTCTGAGGCAC
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	278	MG3- 6/3-4 TRBC1 C4	AGTTATCTTCTGAGGCACCTGA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	279	MG3- 6/3-4 TRBC1 D4	GTTATCTTCTGAGGCACCTGAA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	280	MG3- 6/3-4 TRBC1 E4	TCAAGAACCATGAGAGAGGGAG
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	281	MG3- 6/3-4 TRBC1 F4	CAAGAACCATGAGAGAGGGAGA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	282	MG3- 6/3-4 TRBC1 G4	TTACCCGAGGTAAGCCACAGT
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	283	MG3- 6/3-4 TRBC1 H4	CCGAGGTAAGCCACAGTCTGA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	284	MG3- 6/3-4 TRBC1 A5	CAGTCTGAAAGAAAGCAGGGAG
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	285	MG3- 6/3-4 TRBC1 B5	AGTCTGAAAGAAAGCAGGGAGA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	286	MG3- 6/3-4 TRBC1 C5	GTCTGAAAGAAAGCAGGGAGAG

[0206]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	287	MG3-6/3-4 TRBC1 D5	GAAAGAAAGCAGGGAGAGGAAA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	288	MG3-6/3-4 TRBC1 E5	GAGACCTTATTTTCATAGGCAA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	289	MG3-6/3-4 TRBC1 F5	GATGAGAGTTACACAGGCCACA
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	290	MG3-6/3-4 TRBC1 G5	AGCTGCTTGGCTCTGTTGGGCT
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	291	MG3-6/3-4 TRBC1 H5	TGTTGGGCTGAGAATCTGGGAG
TRBC1 표적 부위의 DNA 서열	292	MG3-6/3-4 TRBC1 A6	GGAACACCTTGTTCCAGGTCCTC
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	293	MG3-6/3-4 TRBC2 A1	mA*mC*mC*rUrCrUrUrCrCrCrUrUrUrCrCrArGrArGrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	294	MG3-6/3-4 TRBC2 B1	mC*mC*mU*rCrUrUrCrCrCrUrUrUrCrCrArGrArGrArCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	295	MG3-6/3-4 TRBC2 C1	mC*mU*mC*rUrUrCrCrCrUrUrUrCrCrArGrArGrArCrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	296	MG3-6/3-4 TRBC2 D1	mC*mA*mG*rArArGrCrArGrArGrArUrCrUrCrCrArCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	297	MG3-6/3-4 TRBC2 E1	mC*mC*mA*rCrGrUrGrGrArGrCrUrGrArGrCrUrGrGrUrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는	298	MG3-6/3-4 TRBC2 F1	mA*mG*mU*rCrCrArGrUrUrCrUrArCrGrGrGrCrUrCrUrCrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU

[0207]

범주	서열 번호	명칭	서열
MG3-6/3-4 sgRNA			rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	299	MG3-6/3-4 TRBC2 G1	mG*mA*mU*rUrArGrGrUrGrArGrArCrCrArGrCrUrArCrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	300	MG3-6/3-4 TRBC2 H1	mA*mU*mU*rArGrGrUrGrArGrArCrCrArGrCrUrArCrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	301	MG3-6/3-4 TRBC2 A2	mU*mU*mA*rGrGrUrGrArGrArCrCrArGrCrUrArCrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	302	MG3-6/3-4 TRBC2 B2	mU*mG*mA*rGrArCrCrArGrCrUrArCrCrArGrGrArArArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	303	MG3-6/3-4 TRBC2 C2	mU*mA*mG*rCrGrGrArCrArArGrArCrUrArGrArUrCrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	304	MG3-6/3-4 TRBC2 D2	mC*mC*mC*rCrCrArCrCrArArGrArArGrCrArUrArGrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	305	MG3-6/3-4 TRBC2 E2	mU*mC*mU*rGrCrUrCrUrCrGrArArCrCrArGrGrGrCrArUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	306	MG3-6/3-4 TRBC2 F2	mG*mG*mA*rArCrArUrCrArCrArCrArUrGrGrGrCrArUrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	307	MG3-6/3-4 TRBC2 G2	mC*mC*mU*rArArUrArArUrCrCrUrArUrCrArCrCrUrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	308	MG3-6/3-4 TRBC2 H2	mA*mC*mC*rArUrArArUrGrArArGrCrCrArGrArCrUrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0208]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	309	MG3-6/3-4 TRBC2 A3	mC*mC*mA*rUrArArUrGrArArGrCrCrArGrArCrUrGrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	310	MG3-6/3-4 TRBC2 B3	mC*mA*mU*rArArUrGrArArGrCrCrArGrArCrUrGrGrGrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	311	MG3-6/3-4 TRBC2 C3	mG*mC*mC*rArGrArCrUrGrGrGrGrArGrArArArUrGrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	312	MG3-6/3-4 TRBC2 D3	mG*mG*mA*rGrArArArUrGrCrArGrGrGrArArUrArUrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	313	MG3-6/3-4 TRBC2 E3	mG*mG*mA*rGrArCrArArCrCrArGrCrGrArGrCrCrCrUrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	314	MG3-6/3-4 TRBC2 F3	mU*mA*mC*rUrCrCrUrGrCrUrGrUrGrCrCrArUrArGrCrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	315	MG3-6/3-4 TRBC2 G3	mC*mU*mG*rUrGrCrCrArUrArGrCrCrCrCrUrGrArArArCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	316	MG3-6/3-4 TRBC2 H3	mU*mG*mU*rGrCrCrArUrArGrCrCrCrCrUrGrArArArCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	317	MG3-6/3-4 TRBC2 A4	mG*mU*mG*rCrCrArUrArGrCrCrCrCrUrGrArArArCrCrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	318	MG3-6/3-4 TRBC2 B4	mU*mG*mU*rUrCrUrCrUrUrUrCrCrArCrArGrGrUrCrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2를 표적으로 하는	319	MG3-6/3-4	mG*mA*mA*rArGrGrArUrUrCrCrArGrArGrGrCrUrArGrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrUrGrU*mU*mU*mU

[0209]

범주	서열 번호	명칭	서열
MG3-6/3-4 sgRNA		TRBC2 C4	rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	320	MG3-6/3-4 TRBC2 D4	mG*mG*mA*rUrGrGrUrUrUrUrGrGrArGrCrUrArGrCrCrUrCrGrUrUrGrArGrArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	321	MG3-6/3-4 TRBC2 E4	mC*mC*mC*rUrGrGrUrUrCrGrArGrArGrCrArGrArGrArCrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	322	MG3-6/3-4 TRBC2 F4	mA*mG*mC*rArGrArGrArCrGrGrCrGrArArArGrArUrArGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	323	MG3-6/3-4 TRBC2 G4	mG*mC*mA*rGrArGrArCrGrGrCrGrArArArGrArUrArGrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	324	MG3-6/3-4 TRBC2 H4	mC*mA*mG*rArGrArCrGrGrCrGrArArArGrArUrArGrArGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	325	MG3-6/3-4 TRBC2 A5	mU*mU*mA*rCrCrGrGrArGrGrUrGrArArGrCrCrArCrArGrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	326	MG3-6/3-4 TRBC2 B5	mC*mG*mG*rArGrGrUrGrArArGrCrCrArCrArGrUrCrUrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	327	MG3-6/3-4 TRBC2 C5	mG*mG*mA*rGrGrUrGrArArGrCrCrArCrArGrUrCrUrGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	328	MG3-6/3-4 TRBC2 D5	mA*mC*mA*rGrUrCrUrGrArArArGrArArArArCrArGrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	329	MG3-6/3-4 TRBC2 E5	mC*mA*mG*rUrCrUrGrArArArGrArArArArCrArGrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0210]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	330	MG3-6/3-4 TRBC2 F5	mA*mG*mU*rCrUrGrArArArGrArArArArArArArArArArGrGrGrGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	331	MG3-6/3-4 TRBC2 G5	mG*mU*mC*rUrGrArArArGrArArArArArArArArArArGrGrGrGrArArGrUrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	332	MG3-6/3-4 TRBC2 H5	mA*mC*mA*rGrGrGrGrArArGrArArArArArArUrGrGrArUrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	333	MG3-6/3-4 TRBC2 A6	mG*mC*mG*rArArGrUrGrGrUrCrArCrUrArUrGrArUrCrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	334	MG3-6/3-4 TRBC2 B6	mU*mU*mA*rGrGrArArArCrCrArGrGrArCrCrCrCrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	335	MG3-6/3-4 TRBC2 C6	mU*mA*mU*rGrGrCrUrGrGrUrCrCrUrCrArGrGrGrArGrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	336	MG3-6/3-4 TRBC2 D6	mC*mU*mA*rArGrGrUrGrUrCrArGrGrArUrCrUrGrArArGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	337	MG3-6/3-4 TRBC2 E6	mG*mG*mA*rArCrArCrGrUrUrUrUrCrArGrGrUrCrCrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	338	MG3-6/3-4 TRBC2 A1	ACCTCTCCCTTTCCAGAGGAC
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	339	MG3-6/3-4 TRBC2 B1	CCTCTCCCTTTCCAGAGGACC
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	340	MG3-6/3-4 TRBC2 C1	CTCTTCCCTTTCCAGAGGACCT

[0211]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	341	MG3-6/3-4 TRBC2 D1	CAGAAGCAGAGATCTCCCACAC
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	342	MG3-6/3-4 TRBC2 E1	CCACGTGGAGCTGAGCTGGTGG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	343	MG3-6/3-4 TRBC2 F1	AGTCCAGTTCTACGGGCTCTCG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	344	MG3-6/3-4 TRBC2 G1	GATTAGGTGAGACCAGCTACCA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	345	MG3-6/3-4 TRBC2 H1	ATTAGGTGAGACCAGCTACCAG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	346	MG3-6/3-4 TRBC2 A2	TTAGGTGAGACCAGCTACCAGG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	347	MG3-6/3-4 TRBC2 B2	TGAGACCAGCTACCAGGAAAA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	348	MG3-6/3-4 TRBC2 C2	TAGCGGACAAGACTAGATCCAG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	349	MG3-6/3-4 TRBC2 D2	CCCCACCAAGAAGCATAGAGG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	350	MG3-6/3-4 TRBC2 E2	TCTGCTCTCGAACCAGGGCATG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	351	MG3-6/3-4 TRBC2 F2	GGAACATCACACATGGGCATAA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	352	MG3-6/3-4 TRBC2 G2	CCTAATATATCCTATCACCTCA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	353	MG3-6/3-4 TRBC2 H2	ACCATAATGAAGCCAGACTGGG

[0212]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	354	MG3-6/3-4 TRBC2 A3	CCATAATGAAGCCAGACTGGGG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	355	MG3-6/3-4 TRBC2 B3	CATAATGAAGCCAGACTGGGA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	356	MG3-6/3-4 TRBC2 C3	GCCAGACTGGGAGAAAATGCA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	357	MG3-6/3-4 TRBC2 D3	GGAGAAAATGCAGGGAATATCA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	358	MG3-6/3-4 TRBC2 E3	GGAGACAACCAGCGAGCCCTAC
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	359	MG3-6/3-4 TRBC2 F3	TACTCCTGCTGTGCCATAGCCC
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	360	MG3-6/3-4 TRBC2 G3	CTGTGCCATAGCCCCTGAAACC
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	361	MG3-6/3-4 TRBC2 H3	TGTGCCATAGCCCCTGAAACCC
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	362	MG3-6/3-4 TRBC2 A4	GTGCCATAGCCCCTGAAACCCT
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	363	MG3-6/3-4 TRBC2 B4	TGTTCTCTCTCCACAGGTCAA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	364	MG3-6/3-4 TRBC2 C4	GAAAGGATTCAGAGGCTAGCT
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	365	MG3-6/3-4 TRBC2 D4	GGATGGTTTTGGAGCTAGCCTC
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	366	MG3-6/3-4 TRBC2 E4	CCCTGGTTCGAGAGCAGAGACG

[0213]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	367	MG3-6/3-4 TRBC2 F4	AGCAGAGACGGCGAAAGATAGA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	368	MG3-6/3-4 TRBC2 G4	GCAGAGACGGCGAAAGATAGAG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	369	MG3-6/3-4 TRBC2 H4	CAGAGACGGCGAAAGATAGAGA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	370	MG3-6/3-4 TRBC2 A5	TTACCGGAGGTGAAGCCACAGT
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	371	MG3-6/3-4 TRBC2 B5	CGGAGGTGAAGCCACAGTCTGA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	372	MG3-6/3-4 TRBC2 C5	GGAGGTGAAGCCACAGTCTGAA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	373	MG3-6/3-4 TRBC2 D5	ACAGTCTGAAAGAAAACAGGGG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	374	MG3-6/3-4 TRBC2 E5	CAGTCTGAAAGAAAACAGGGGA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	375	MG3-6/3-4 TRBC2 F5	AGTCTGAAAGAAAACAGGGGAA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	376	MG3-6/3-4 TRBC2 G5	GTCTGAAAGAAAACAGGGGAAG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	377	MG3-6/3-4 TRBC2 H5	ACAGGGGAAGAAAATGGATGA
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	378	MG3-6/3-4 TRBC2 A6	GCGAAGTGGTCACTATGATCTT
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	379	MG3-6/3-4 TRBC2 B6	TTAGGAAACCAGGACCCAGAA

[0214]

범주	서열 번호	명칭	서열
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	380	MG3-6/3-4 TRBC2 C6	TATGGCTGGTCCTCAGGGAGAC
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	381	MG3-6/3-4 TRBC2 D6	CTAAGGTGTCAGGATCTGAAGG
TRBC2 표적 부위의 DNA 서열	382	MG3-6/3-4 TRBC2 E6	GGAACACGTTTTTCAGGTCCTC
(r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합)			

[0215]

[0216] 실시예 16 - Hep3B 세포에서 ANGPTL3에 대한 유전자 편집 결과의 DNA 수준에서의 분석

[0217] Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, 아래 표 7D에 기술된 sgRNA 및 서열번호 383~572를 포함하는 MG3-6/4 RNP(104 pmol 단백질/120 pmol 가이드)를 Hep3B 세포(100,000) 내로 뉴클레오펙션하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(도 21). 결과는, 본 검정에서 가장 높은 성능을 보인 sgRNA는 sgRNA E5, C6, A7, A8, A9, G9, G10, E11, A12, 및 C12임을 나타낸다.

[0218] [표 7D]

실시예 16에 사용된 gRNA 및 표적화 서열

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	383	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A1	mU*mU*mG*rUrUrCrCrUrCrUrArGrUrUrArUrUrCrCrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	384	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B1	mA*mU*mU*rUrGrArUrUrCrUrCrUrArUrCrUrCrCrArGrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	385	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C1	mU*mU*mU*rGrArUrUrCrUrCrUrArUrCrUrCrCrArGrArGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	386	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D1	mA*mA*mG*rArUrUrGrCrUrArUrGrUrUrArGrArCrGrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	387	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E1	mA*mG*mA*rUrUrUrGrCrUrArUrGrUrUrArGrArCrGrArUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	388	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F1	mG*mA*mU*rUrUrGrCrUrArUrGrUrUrArGrArCrGrArUrGrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	389	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G1	mA*mC*mU*rUrUrGrUrCrCrArUrArArGrArCrGrArArGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	390	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H1	mA*mG*mG*rGrCrCrArArArUrArArUrGrArCrArUrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0219]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	391	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 A2	mG*mG*mG*rCrCrArArArUrUrArArUrGrArCrArUrArUrUrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	392	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 B2	mU*mA*mU*rGrArUrCrUrArUrCrGrCrUrGrCrArArArCrCrArGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	393	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 C2	mA*mU*mG*rArUrCrUrArUrCrGrCrUrGrCrArArArCrCrArGrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	394	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 D2	mC*mA*mA*rArCrCrArGrUrGrArArArUrCrArArArGrArArGrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	395	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 E2	mA*mA*mA*rCrCrArGrUrGrArArArUrCrArArArGrArArGrArGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	396	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 F2	mA*mC*mA*rArGrUrCrArArArArUrGrArArGrArGrGrUrArGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	397	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 G2	mG*mA*mA*rUrArUrGrUrCrArCrUrUrGrArArCrUrCrArArCrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	398	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 H2	mU*mC*mA*rCrUrUrGrArArCrUrCrArArCrUrCrArArArCrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3 을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	399	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 A3	mU*mC*mA*rArArArCrUrUrGrArArArGrCrCrUrCrCrUrArGrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU

[0220]

번호	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	400	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B3	mC*mA*mA*rArArCrUrUrGrArArArGrCrCrUrCrCrUrArGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	401	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C3	mA*mA*mA*rArCrUrUrGrArArArGrCrCrUrCrCrUrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	402	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D3	mA*mA*mA*rCrUrUrGrArArArGrCrCrUrCrCrUrArGrArArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	403	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E3	mA*mA*mC*rUrUrGrArArArGrCrCrUrCrCrUrArGrArArGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	404	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F3	mG*mU*mU*rCrUrGrGrArGrUrUrUrCrArGrGrUrUrGrArUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	405	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G3	mC*mA*mC*rUrGrGrUrUrUrGrCrArGrCrGrArUrArGrArUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	406	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H3	mA*mC*mU*rGrGrUrUrUrGrCrArGrCrGrArUrArGrArUrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	407	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A4	mC*mG*mA*rUrArGrArUrCrArUrArArArArGrArCrUrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	408	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B4	mC*mC*mC*rArArCrUrGrArArGrGrArGrGrCrCrArUrUrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0221]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	409	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C4	mC*mC*mA*rArCrUrGrArArGrGrArGrGrCrCrArUrUrGrGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	410	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D4	mC*mU*mU*rGrArUrUrUrGrGrCrUrCrUrGrGrArGrArUrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	411	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E4	mU*mU*mU*rUrGrGrCrUrCrUrGrGrArGrArUrArGrArGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	412	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F4	mU*mC*mU*rGrGrArGrArUrArGrArGrArArUrCrArArArUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	413	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G4	mG*mA*mA*rUrUrGrUrCrUrUrGrArUrCrArArUrUrCrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	414	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H4	mA*mA*mU*rUrGrUrCrUrUrGrArUrCrArArUrUrCrUrGrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	415	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A5	mG*mG*mA*rGrGrArArArUrArArCrUrArGrArGrGrArArCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	416	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B5	mG*mA*mG*rGrArArArUrArArCrUrArGrArGrGrArArCrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	417	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C5	mA*mC*mU*rCrUrCrUrArUrArUrCrCrArGrArCrUrUrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0222]

번호	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	418	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D5	mC*mU*mC*rUrCrUrArUrArUrCrCrArGrArCrUrUrUrGrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	419	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E5	mU*mC*mU*rCrUrArUrArUrCrCrArGrArCrUrUrUrUrGrUrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	420	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F5	mA*mA*mC*rArArUrUrArArArCrCrArArCrArGrCrArUrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	421	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G5	mA*mU*mU*rArArArCrCrArArCrArGrCrArUrArGrUrCrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	422	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H5	mA*mA*mC*rCrArArCrArGrCrArUrArGrUrCrArArArUrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	423	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A6	mA*mC*mC*rArArCrArGrCrArUrArGrUrCrArArArUrArArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	424	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B6	mG*mA*mU*rGrCrUrArUrArUrCrUrUrGrUrUrUrUrUrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	425	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C6	mA*mG*mG*rArCrUrArGrUrArUrUrCrArArGrArArCrCrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	426	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D6	mG*mG*mA*rCrUrArGrUrArUrUrCrArArGrArArCrCrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0223]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	427	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E6	mA*mA*mG*rArArCrUrArCrUrCrCrUrUrCrUrCrUrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	428	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F6	mA*mC*mU*rArCrUrCrCrUrUrCrUrCrUrCrArGrUrUrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	429	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G6	mC*mU*mA*rCrUrCrCrUrUrCrUrCrUrCrArGrUrUrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	430	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H6	mC*mC*mU*rUrUrCrUrCrUrCrArGrUrUrGrArArUrUrGrArArArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	431	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A7	mG*mG*mU*rGrCrUrCrUrUrGrGrCrUrUrGrGrArArGrArArUrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	432	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B7	mG*mU*mG*rCrUrCrUrUrGrGrCrUrUrGrGrArArGrArArUrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	433	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C7	mA*mU*mA*rGrArGrArArArUrUrCrUrGrUrGrGrUrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	434	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D7	mG*mA*mA*rUrArCrUrArGrUrCrCrUrUrCrUrGrArGrCrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	435	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E7	mU*mU*mA*rUrUrGrArUrUrCrUrArGrGrCrArUrUrCrCrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0224]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	436	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F7	mG*mU*mC*rUrArCrUrGrUrGrArUrGrUrArUrArUrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	437	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G7	mC*mU*mG*rArUrArUrArArCrArUrCrArCrArGrUrArGrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	438	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H7	mU*mG*mA*rUrArUrArArCrArUrCrArCrArGrUrArGrArCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	439	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A8	mG*mA*mU*rArUrArArCrArUrCrArCrArGrUrArGrArCrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	440	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B8	mC*mA*mC*rUrUrGrUrArUrGrUrUrCrArCrCrUrCrUrGrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	441	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C8	mU*mA*mU*rArArArUrGrGrUrGrGrUrArCrArUrUrCrArGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	442	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D8	mU*mG*mG*rUrArCrArUrUrCrArGrCrArGrGrArArUrGrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	443	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E8	mG*mU*mC*rCrArUrGrGrArCrArUrUrArArUrUrCrArArCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	444	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F8	mU*mU*mC*rArArCrArUrCrGrArArArGrArUrGrGrArUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0225]

번호	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	445	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G8	mA*mU*mA*rGrArUrGrGrArUrCrArCrArArArArCrUrUrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	446	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H8	mU*mU*mC*rArArUrGrArArArCrGrUrGrGrGrArGrArArCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	447	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A9	mA*mG*mU*rCrCrCrUrUrArCrCrArUrCrArArGrCrCrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	448	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B9	mU*mU*mU*rGrUrGrArUrCrCrArUrCrUrArUrUrCrGrArUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	449	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C9	mU*mG*mA*rArUrArArUrGrUrCrCrArUrGrGrArCrUrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	450	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D9	mU*mU*mU*rArCrGrArArUrUrGrArGrUrUrGrGrArArGrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	451	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E9	mG*mG*mC*rArArUrGrUrCrCrCrArArUrGrCrArArUrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	452	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F9	mG*mC*mA*rArUrGrUrCrCrCrArArUrGrCrArArUrCrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	453	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G9	mG*mU*mU*rUrUrCrUrArCrUrUrGrGrGrArUrCrArCrArArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0226]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	454	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H9	mC*mC*mU*rUrUrGrCrUrUrUrGrUrGrArUrCrCrCrArArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	455	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A10	mC*mU*mU*rUrUrGrCrUrUrUrGrUrGrArUrCrCrCrArArGrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	456	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B10	mU*mU*mG*rUrGrArUrCrCrCrArArGrUrArGrArArArArCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	457	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C10	mA*mG*mU*rUrGrGrUrUrUrCrGrUrGrArUrUrUrCrCrCrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	458	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D10	mG*mU*mU*rGrGrUrUrUrCrGrUrGrArUrUrUrCrCrCrArArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	459	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E10	mG*mU*mU*rUrCrGrUrGrArUrUrUrCrCrCrArArGrUrArArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	460	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F10	mU*mU*mC*rCrArGrUrCrUrUrCrCrArArCrUrCrArArUrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	461	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G10	mA*mG*mU*rArUrArUrCrUrUrCrUrCrUrArGrGrCrCrCrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	462	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H10	mG*mU*mA*rUrArUrCrUrUrCrUrCrUrArGrGrCrCrCrArArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0227]

번호	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	463	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A11	mU*mC*mU*rArGrGrCrCrCrArArCrCrArArArArUrUrCrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	464	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B11	mC*mU*mA*rGrGrCrCrCrArArCrCrArArArArUrUrCrUrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	465	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C11	mG*mC*mC*rCrArArCrCrArArArArUrUrCrUrCrCrUrGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	466	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D11	mU*mG*mG*rUrGrGrUrGrGrCrArUrGrArUrGrArGrUrGrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	467	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E11	mG*mG*mU*rGrGrUrGrGrCrArUrGrArUrGrArGrUrGrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	468	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F11	mU*mG*mA*rUrGrArGrUrGrUrGrGrArGrArArArArCrArArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	469	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G11	mU*mG*mU*rGrGrArGrArArArArCrArArCrCrArArArUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	470	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H11	mG*mG*mU*rArArArUrArArArCrArArArCrArArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	471	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A12	mG*mA*mA*rGrArGrGrArUrUrArUrCrUrUrGrGrArArGrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0228]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	472	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B12	mA*mA*mG*rArGrGrArUrUrArUrCrUrUrGrGrArArGrUrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	473	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C12	mU*mC*mA*rArArArUrGrGrArArGrGrUrUrArUrArCrUrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	474	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D12	mC*mA*mA*rArArUrGrGrArArGrGrUrUrArUrArCrUrCrUrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	475	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E12	mA*mU*mG*rUrUrGrArUrCrCrArUrCrCrArArCrArGrArUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	476	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F12	mC*mA*mU*rCrCrArArCrArGrArUrUrCrArGrArArArGrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	477	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G12	mG*mC*mC*rUrCrArGrUrUrCrArUrUrCrArArArGrCrUrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	478	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A1	TTGTTCTCTAGTTATTTCTC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	479	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B1	ATTTGATTCTCTATCTCCAGAG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	480	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C1	TTTGATTCTCTATCTCCAGAGC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	481	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D1	AAGATTTGCTATGTTAGACGAT

[0229]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	482	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 E1	AGATTTGCTATGTTAGACGATG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	483	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 F1	GATTTGCTATGTTAGACGATGT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	484	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 G1	ACTTTGTCCATAAGACGAAGGG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	485	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 H1	AGGGCCAAATTAATGACATATT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	486	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 A2	GGGCCAAATTAATGACATATTT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	487	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 B2	TATGATCTATCGCTGCAAACCA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	488	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 C2	ATGATCTATCGCTGCAAACCAG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	489	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 D2	CAAACCAGTGAAATCAAAGAAG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	490	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 E2	AAACCAGTGAAATCAAAGAAGA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	491	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 F2	ACAAGTCAAAAATGAAGAGTA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	492	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 G2	GAATATGTCACTTGAACCTAAC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	493	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 H2	TCACTTGAACCTCAACTCAAAC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	494	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 A3	TCAAACTTGAAAGCCTCCTAG

[0230]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	495	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B3	CAAAACTTGAAAGCCTCCTAGA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	496	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C3	AAAACCTTGAAAGCCTCCTAGAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	497	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D3	AAACTTGAAAGCCTCCTAGAAG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	498	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E3	AACTTGAAAGCCTCCTAGAAGA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	499	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F3	GTTCTGGAGTTTCAGGTTGATT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	500	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G3	CACTGGTTTGCAGCGATAGATC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	501	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H3	ACTGGTTTGCAGCGATAGATCA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	502	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A4	CGATAGATCATAAAAAGACTGA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	503	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B4	CCCAACTGAAGGAGGCCATTGG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	504	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C4	CCAAGTGAAGGAGGCCATTGGC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	505	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D4	CTTGATTTTGGCTCTGGAGATA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	506	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E4	TTTTGGCTCTGGAGATAGAGAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	507	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F4	TCTGGAGATAGAGAATCAAATG

[0231]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	508	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 G4	GAATTGCTTTGATCAATTCTGG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	509	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 H4	AATTGCTTTGATCAATTCTGGA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	510	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 A5	GGAGGAAATAACTAGAGGAACA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	511	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 B5	GAGGAAATAACTAGAGGAACAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	512	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 C5	ACTCTCTATATCCAGACTTTTG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	513	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 D5	CTCTCTATATCCAGACTTTTGT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	514	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 E5	TCTCTATATCCAGACTTTTGTA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	515	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 F5	AACAATTAACCAACAGCATAG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	516	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 G5	ATTAACCAACAGCATAGTCAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	517	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 H5	AACCAACAGCATAGTCAAATAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	518	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 A6	ACCAACAGCATAGTCAAATAAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	519	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 B6	GATGCTATTATCTTGTTTTCT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	520	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 C6	AGGACTAGTATTCAAGAACCCA

[0232]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	521	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 D6	GGACTAGTATTCAAGAACCCAC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	522	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 E6	AAGAACTACTCCCTTTCTTCAG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	523	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 F6	ACTACTCCCTTTCTTCAGTTGA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	524	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 G6	CTACTCCCTTTCTTCAGTTGAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	525	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 H6	CCTTTCTTCAGTTGAATGAAAT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	526	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 A7	GGTGCTCTGGCTTGAAGATA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	527	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 B7	GTGCTCTGGCTTGAAGATAG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	528	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 C7	ATAGAGAAATTTCTGTGGGTTTC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	529	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 D7	GAATACTAGTCCTTCTGAGCTG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	530	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 E7	TTATTGATTCTAGGCATTCTCG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	531	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 F7	GTCTACTGTGATGTTATATCAG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	532	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 G7	CTGATATAACATCACAGTAGAC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	533	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 H7	TGATATAACATCACAGTAGACA

[0233]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	534	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A8	GATATAACATCACAGTAGACAT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	535	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B8	CACTTGATGTTACCTCTGTT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	536	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C8	TATAAATGGTGGTACATTCAGC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	537	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D8	TGGTACATTCAGCAGGAATGCC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	538	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E8	GTCCATGGACATTAATTCAACA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	539	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F8	TTCAACATCGAATAGATGGATC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	540	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G8	ATAGATGGATCACAAACTTCA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	541	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H8	TTCAATGAAACGTGGGAGAACT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	542	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A9	AGTCCCCTTACCATCAAGCCTC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	543	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B9	TTTGTGATCCATCTATTGATG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	544	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C9	TGAATTAATGTCCATGGACTAC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	545	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D9	TTTACGAATTGAGTTGGAAGAC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	546	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E9	GGCAATGTCCCAATGCAATCC

[0234]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	547	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 F9	GCAATGTCCTCCCAATGCAATCCC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	548	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 G9	GTTTTCTACTTGGGATCACAAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	549	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 H9	CCTTTTGCTTTGTGATCCCAAG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	550	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 A10	CTTTTGCTTTGTGATCCCAAGT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	551	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 B10	TTGTGATCCCAAGTAGAAAACA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	552	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 C10	AGTTGGTTTCGTGATTCCCAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	553	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 D10	GTTGGTTTCGTGATTCCCAAG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	554	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 E10	GTTTCGTGATTCCCAAGTAAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	555	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 F10	TTCCA6TCTTCCAACCTCAATTC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	556	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 G10	AGTATATCTTCTCTAGGCCCAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	557	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 H10	GTATATCTTCTCTAGGCCCAAC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	558	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 A11	TCTAGGCCCAACCAAAATTCTC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	559	MG3- 6/3-4 ANGPT L3 B11	CTAGGCCCAACCAAAATTCTCC

[0235]

범주	서열 번호	명칭	서열
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	560	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C11	GCCCAACCAAATTCCTCTGAA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	561	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D11	TGGTGGTGGCATGATGAGTGTG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	562	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E11	GGTGGTGGCATGATGAGTGTGG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	563	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F11	TGATGAGTGTGGAGAAAACAAC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	564	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G11	TGTGGAGAAAACAACCTAAATG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	565	MG3-6/3-4 ANGPT L3 H11	GGTAAATATAACAACCAAGAG
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	566	MG3-6/3-4 ANGPT L3 A12	GAAGAGGATTATCTTGAAGTC
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	567	MG3-6/3-4 ANGPT L3 B12	AAGAGGATTATCTTGAAGTCT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	568	MG3-6/3-4 ANGPT L3 C12	TCAAAATGGAAGTTTACTCT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	569	MG3-6/3-4 ANGPT L3 D12	CAAAATGGAAGTTTACTCTA
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	570	MG3-6/3-4 ANGPT L3 E12	ATGTTGATCCATCCAACAGATT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	571	MG3-6/3-4 ANGPT L3 F12	CATCCAACAGATTCAGAAAGCT
ANGPTL3 표적 부위의 DNA 서열	572	MG3-6/3-4 ANGPT L3 G12	GCCTCAGTTCATTCAAAGCTTT

[0236]

범주	서열 번호	명칭	서열
(r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합)			

[0237]

[0238]

[0239]

실시예 17 - Hep3B 세포에서 PCSK9에 대한 유전자 편집 결과의 DNA 수준에서의 분석

Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, 아래 표 7E에 기술된 sgRNA 및 서열번호 573~602를 포함하는 MG3-6/4 RNP(104 pmol 단백질/120 pmol 가이드)를 Hep3B 세포(100,000) 내로 뉴클레오펙션하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(도 22). 결과는 sgRNA B1, F1, A2, 및 E2로 가장 높은 편집 성능을 달성하였고, D2, C2, B2, H1, 및 F2로도 주목할 만한 편집이 발생하였음을 나타낸다.

[0240]

[표 7E]

실시예 17에 사용된 gRNA 및 표적화 서열

범주	서열 번호	명칭	서열
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	573	MG3-6/3-4 PCSK9 A1	mA*mC*mC*mC*rCrCrUrCrCrArCrGrGrUrArCrCrGrGrCrGrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU

[0241]

범주	서열 번호	명칭	서열
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	574	MG3-6/3-4 PCSK9 B1	mA*mC*mC*mC*rArGrCrArUrArCrArGrArGrUrGrArCrCrArCrCrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	575	MG3-6/3-4 PCSK9 C1	mC*mC*mA*rGrCrArUrArCrArGrArGrUrGrArCrCrArCrCrGrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	576	MG3-6/3-4 PCSK9 D1	mC*mA*mG*rGrGrUrCrArUrGrGrUrCrArCrCrGrArCrUrUrCrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	577	MG3-6/3-4 PCSK9 E1	mC*mC*mU*rCrCrArGrGrCrCrUrGrGrArGrUrUrArUrUrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	578	MG3-6/3-4 PCSK9 F1	mC*mU*mC*rCrCrArGrGrCrCrUrGrGrArGrUrUrArUrUrCrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	579	MG3-6/3-4 PCSK9 G1	mC*mA*mG*rGrCrUrGrGrArCrCrArGrCrUrGrGrCrUrUrUrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	580	MG3-6/3-4 PCSK9 H1	mG*mG*mU*rGrGrCrCrCrArArCrUrGrUrGrArUrGrArCrCrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	581	MG3-6/3-4 PCSK9 A2	mG*mC*mC*rCrCrGrCrCrGrCrUrUrCrCrArCrUrCrCrUrGrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	582	MG3-6/3-4 PCSK9 B2	mA*mG*mU*rGrUrGrCrUrGrArCrCrArUrArCrArGrUrCrCrUrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	583	MG3-6/3-4 PCSK9 C2	mC*mC*mU*rGrCrArArArArCrArGrCrUrGrCrCrArArCrCrUrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrAr UrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는	584	MG3-6/3-4	mC*mU*mG*rCrArArArArCrArGrCrUrGrCrCrArArCrCrUrGrGrUrUr rGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArGrGrCr ArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrU

[0242]

범주	서열 번호	명칭	서열
MG3-6/3-4 sgRNA		PCSK9 D2	rCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	585	MG3-6/3-4 PCSK9 E2	mA*mA*mU*rGrGrCrGrUrArGrArCrArCrCrUrCrArCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	586	MG3-6/3-4 PCSK9 F2	mU*mC*mC*rUrGrCrUrGrCrCrArUrGrCrCrCrArGrGrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
PCSK9를 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA	587	MG3-6/3-4 PCSK9 G2	mU*mG*mG*rArArUrGrCrArArArGrUrCrArArGrGrArGrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	588	MG3-6/3-4 PCSK9 A1	ACCCCTCCACGGTACCGGGCGG
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	589	MG3-6/3-4 PCSK9 B1	ACCAGCATACAGAGTGACCACC
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	590	MG3-6/3-4 PCSK9 C1	CCAGCATACAGAGTGACCACCG
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	591	MG3-6/3-4 PCSK9 D1	CAGGGTCATGGTCACCGACTTC
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	592	MG3-6/3-4 PCSK9 E1	CCTCCAGGCCTGGAGTTTATT
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	593	MG3-6/3-4 PCSK9 F1	CTCCAGGCCTGGAGTTTATTC
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	594	MG3-6/3-4 PCSK9 G1	CAGGCTGGACCAGCTGGCTTTT
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	595	MG3-6/3-4 PCSK9 H1	GGTGGCCCCAACTGTGATGACC
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	596	MG3-6/3-4 PCSK9 A2	GCCCCGCGCTTCCCCTCCTG

[0243]

범주	서열 번호	명칭	서열
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	597	MG3-6/3-4 PCSK9 B2	AGTGTGCTGACCATACAGTCCT
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	598	MG3-6/3-4 PCSK9 C2	CCTGCAAAACAGCTGCCAACCT
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	599	MG3-6/3-4 PCSK9 D2	CTGCAAAACAGCTGCCAACCTG
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	600	MG3-6/3-4 PCSK9 E2	AATGGCGTAGACACCCCTCACCC
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	601	MG3-6/3-4 PCSK9 F2	TCCTGCTGCCATGCCCCAGGTC
PCSK9 표적 부위의 DNA 서열	602	MG3-6/3-4 PCSK9 G2	TGGAATGCAAAGTCAAGGAGCA

(r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합)

[0244]

[0245]

실시예 18 - 지질 나노입자의 전신 투여에 의해 전달된 키메라 뉴클레아제 MG3-6/3-4에 의한 마우스의 간에서의 생체 내 유전자 편집

[0246]

살아 있는 동물의 생체 내에서 게놈을 편집하는 MG3-6/3-4 키메라 II형 뉴클레아제의 능력을 평가하기 위해, 지질 나노입자를 사용해 MG3-6/3-4 뉴클레아제(예를 들어, 서열번호 603의 RNA 버전), 및 마우스 HAO-1 유전자의 코딩 서열의 상이한 부분을 표적화하는 단일 가이드 RNA(sgRNA)(예를 들어, 아래 표에 기술됨)를 암호화하는 mRNA를 전달하였다. HAO-1 유전자는, 글리콜레이트 대사에 관여하고 간의 간세포에서 주로 발현되는 글리콜레이트 산화효소를 암호화한다. 마우스 간 세포주 Hepa1-6에서 HAO-1 코딩 서열을 표적으로 하는 sgRNA의 스크리닝을 수행하여 활성 가이드를 식별하였다. MG3-6/3-4 뉴클레아제를 암호화하는 mRNA로 형질감염했을 때, Hepa1-6 세포에서 46% 및 26% 편집을 나타낸 sgRNA mH364-7 및 mH364-20을 마우스에서 시험하기 위해 선택하였다. mH364-7은 엑손 2를 표적으로 하고 mH364-20은 엑손 4를 표적으로 한다.

[0247]

고유 RNA 구조의 다수의 화학적 변형을 이들 sgRNA에 통합하였다. 이들 화학적 변형은, 포유류 세포 추출물에서 인큐베이션했을 때, 편집 활성에 부정적인 영향을 미치지 않고 sgRNA의 시험관 내 안정성을 개선하는 이들의 능력에 기초하여 선택하였다. 마우스에서의 초기 시험을 위해, 화학물질 1 및 화학물질 35가 통합된 sgRNA mH364-7 및 mH364-20을 시험을 위해 선택하고, mH364-7-1, mH364-20-1, mH364-7-35, mH364-20-35로서 지정하였다. 화학적 변형을 포함하는 이들 가이드의 서열은 아래 표 9에 나타나 있다.

표 9

[0248]

마우스를 대상으로 생체 내에서 시험한 가이드 RNA의 서열 및 화학적 변형		
가이드 명칭	서열 번호	서열
mH364-7-1	723	mG*mA*mG*CUGGCCACUGUGCGAGGUAGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUAAUAAGGCAUCCUCCGAUGCUGACUUCU CACCGUCCGUUUUCCAUAAGGAGCGGGCGGUAGU*mU*mU*mU
mH364-20-1	724	mU*mU*mC*AGCAAGUCCACUGUUGUCUGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUAAUAAGGCAUCCUCCGAUGCUGACUUCU CACCGUCCGUUUUCCAUAAGGAGCGGGCGGUAGU*mU*mU*mU
mH364-7-35	725	mG*mA*mG*mC*UGGCCACUGUGCGAGGUAGUUGAGAAUCmG*mA*mA*mA*GAUUCUAAUAAGGCAUCmC*mU*mU *mC*mC*GAUGCUGACUUCACCGUCCGUUUUCCmA*mA*mU*mA*GGAGCGGGCGGUA*mU*mG*mU*mU*mU*mU
mH364-20-35	726	mU*mU*mC*mA*GCAAGUCCACUGUUGUCUGUUGAGAAUCmG*mA*mA*mA*GAUUCUAAUAAGGCAUCmC*mU*mU *mC*mC*GAUGCUGACUUCACCGUCCGUUUUCCmA*mA*mU*mA*GGAGCGGGCGGUA*mU*mG*mU*mU*mU*mU

m: 2' -O 메틸 변형된 염기, *: 포스포로티오에이트 백본

- [0249] MG3-6/3-4 뉴클레아제를 암호화하는 mRNA는 New England Biolabs 또는 Trilink Biotechnologies에서 구입한 T7 RNA 중합효소, 뉴클레오티드, 및 효소를 사용하여 선형화된 플라스미드 템플릿을 시험관 내 전사하여 생성하였다.
- [0250] RNA로 전사된 DNA 서열(서열번호 603)은 5' 에서 3' 방향으로 다음을 포함하였다: T7 RNA 중합효소 프로모터, 5' 미번역 영역(5' UTR), 핵 국소화 신호, 짧은 링커, MG3-6/3-4 뉴클레아제에 대한 코딩 서열, 짧은 링커, 핵 국소화 신호, 및 3' 미번역 영역, 및 대략 100 뉴클레오티드의 폴리A 꼬리(서열번호 603에 포함되지 않음).
- [0251] 이 MG3-6/3-4 카세트에 암호화된 합성 mRNA 내에 암호화된 단백질 서열은 5' 에서 3' 방향으로 다음 요소를 포함한다: SV40으로부터의 핵 국소화 신호, 5개의 아미노산 링커(GGGS(서열번호 733)), 개시 메티오닌 코돈이 제거된 MG3-6/3-4 뉴클레아제의 단백질 코딩 서열, 3개의 아미노산 링커(SGG), 및 뉴클레오플라스민으로부터의 핵 국소화 신호. 상업적으로 이용 가능한 알고리즘을 사용해 이 카세트의 단백질 코딩 영역의 DNA 서열을 변형시켜 인간에서의 코돈 사용을 반영하였다. 시험관 내 전사에 사용된 플라스미드에서 대략 100-뉴클레오티드의 폴리A 꼬리를 암호화하고, Trilink Biotechnologies로부터 구입한 CleanCAP™ 시약을 사용해 mRNA를 공동 전사적으로 캡핑하였다. mRNA 내 우리딘을 N1-메틸 슈도우리딘으로 치환하였다.
- [0252] MG3-6/3-4 mRNA 및 가이드 RNA를 전달하는 데 사용된 지질 나노입자(LNP) 제형은 Kauffman 등의 문헌을 포함하는 문헌에 기술된 LNP 제형을 기반으로 한다(Kauffman 등의 문헌[Nano Lett. 2015, 15, 11, 7300-7306] (<https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.5b024970>)). 4개의 지질 성분을 에탄올에 용해시키고 적절한 몰비로 혼합하여 지질 작업 혼합물을 제조하였다. mRNA와 가이드 RNA를 제형화 전에 1:1 질량비로 혼합하거나, 별도의 LNP에서 제형화하고 이를 나중에 2개의 RNA와 1:1 질량비로 마우스에게 공동으로 주입하였다. 어느 경우든, RNA를 100 mM 아세트산 나트륨(pH 4.0)에서 희석하여 RNA 작업 모액을 만들었다. 지질 작업 모액과 RNA 작업 모액을 미세 유체 장치(Ignite NanoAssemblers, Precision Nanosystems)에서 각각 1:3의 유속비 및 12 mL/분의 유속으로 혼합하였다. LNP를 2 내지 16시간 동안 인산염 완충 식염수(PBS)에 대해 투석한 다음, 부피 감소가 달성될 때까지 Amicon 회전 농축기(Millipore)를 사용하여 농축시켰다. LNP 제형 중 RNA의 농도는 Ribogreen 시약(Thermo Fisher)을 사용하여 측정하였다. LNP의 직경 및 다분산성(PDI)은 동적 광 산란에 의해 결정하였다. 대표적인 LNP의 직경은 65 nm 내지 120 nm 범위였고, PDI는 0.05 내지 0.20이었다. LNP를 체중 kg당 1 mg RNA의 총 RNA 투여량으로 꼬리 정맥을 통해 8 내지 12주령 C57B16 야생형 마우스에 정맥내 주입하였다(마우스당 0.1 mL). 투여 후 11일차에, 각 군에서 5마리의 마우스 중 3마리를 희생시키고, 간을 채취하고, PureLink 게놈 DNA 단리 키트(Thermo Fisher Scientific)로 제공된 분해 완충액에서 비드 비터(Omni International)를 사용해 균질화시켰다. PureLink 게놈 DNA 단리 키트(Thermo Fisher Scientific)를 사용해, 생성된 균질물로부터 게놈 DNA를 정제하고 260 nm에서 흡광도를 측정하여 정량화하였다. 완충액만 주입한 마우스로부터 정제한 게놈 DNA를 대조군으로서 사용하였다. 투여 후 28일차에, 각 군에 남아있는 2마리의 마우스를 희생시키고, 간을 채취하고, PureLink Genomic DNA 단리 키트(Thermo Fisher Scientific)로 제공된 분해 완충액에서 비드 비터(Omni International)를 사용해 균질화시켰다. PureLink 게놈 DNA 단리 키트(Thermo Fisher Scientific)를 사용해, 생성된 균질물로부터 게놈 DNA를 정제하고 260 nm에서 흡광도를 측정하여 정량화하였다. 완충액만 주입한 마우스로부터 정제한 게놈 DNA를 대조군으로서 사용하였다.
- [0253] 그런 다음, 간 게놈 DNA를 2개의 가이드에 의해 표적화된 영역의 측면에 위치하는 제1 세트의 프라이머를 사용해 PCR 증폭시켰다. 사용된 PCR 프라이머는 아래 표 10에 나타나 있다.

표 10

[0254]

마우스에서 생체 내 게놈 편집을 분석하기 위해 사용된 PCR 프라이머 및 차세대 시퀀싱 프라이머의 서열					
프라이머 세트 명칭	목적	서열 번호	좌측 프라이머 서열	서열 번호	우측 프라이머 서열
mHA01-NGS-P4	가이드 mH364-7에 대해 HA01 엑손 2에서 표적 부위를 증폭시킨다.	727	GTAAAGAAAACAAGGAATGTAAT	728	ATCTGTCAACTTCTGTTTTAG GAC
mHA01-NGS-P5	가이드 mH364-20에 대해 HA01 엑손 4에서 표적 부위를 증폭시킨다.	729	GCAAAGTAGAGAAATGACAAACC	730	ACCAAGTCAGATATAAACTGT CT

- [0255] 이들 프라이머의 5' 말단은, 두 번째 PCR에 사용된 PCR 프라이머에 상보적인 보존된 영역에 이어서, 서열 다양성을 제공하고 MiSeq 시퀀싱 품질을 개선하기 위한 5 N을 포함하고, 마우스 게놈의 표적 영역에 상보적인 서열

로 종결된다. 100 ng의 게놈 DNA를 대상으로 Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix(New England Biolabs)를 사용하여 60℃의 어닐링 온도에서 총 30 사이클 동안 PCR을 수행하였다. 이어서, MiSeq 기기를 이용한 차세대 시퀀싱을 위한 고유한 이중 Illumina 바코드(IDT)를 추가하도록 설계된 프라이머를 사용하여 두 번째 라운드의 PCR 10 사이클을 수행하였다. 150 bp의 쌍단부 판독을 사용해 각각의 샘플을 10,000 판독을 초과하는 심도로 시퀀싱하였다. 판독을 병합하여 250 bp의 단일 서열을 생성하고, 이로부터 독점적인 Python Script를 사용하여 인텔 백분율과 INDEL 프로파일을 계산하였다.

[0256] 투여 후 11일차에 마우스로부터의 INDEL의 NGS 분석 결과는 표 11에 개별 마우스별로 나타나 있고 도 32에 요약되어 있다.

표 11

[0257] LNP 투여 후 11일차에 야생형 마우스의 전체 간에서, 차세대 시퀀싱에 의해 분석한 MG3-6/3-4에 의한 HAO-1 유전자좌에서의 게놈 편집.

동물 #	가이드 RNA	총 NGS 판독	인텔 (%)	인텔 OOF (%)	평균 INDEL	평균 합계 OOF (%)
1	PBS control	210962	0.09	100	0.2	0.2
2	PBS control	259982	0.29	99.87		
3	PBS control	211193	0.08	100		
6	364mHA-G7-1	164396	54.06	87.02	53.0	46.0
7	364mHA-G7-1	163409	51.93	85.9		
8	364mHA-G7-1	183054	52.94	87.6		
11	364mHA-G7-35	38835	22.71	91.57	23.6	21.1
12	364mHA-G7-35	269963	26.83	89.59		
13	364mHA-G7-35	190007	21.32	87.11		
16	364mHA-G20-1	227766	8.53	88.62	8.9	7.5
17	364mHA-G20-1	202915	5.01	90.36		
18	364mHA-G20-1	236757	13.06	80.52		
21	364mHA-G20-35	177059	2.78	80.98	2.5	2.0
22	364mHA-G20-35	163515	2.29	67.62		
23	364mHA-G20-35	136634	2.31	89.32		

개별 마우스에 대한 데이터가 나타나 있다. 가이드 RNA LNP를 투여한 모든 마우스에게는 MG3-6/3-4 mRNA가 캡슐화된 LNP도 투여하였다. 인텔 OEF의 백분율(%)은 HAO1 코딩 서열이 프레임을 벗어난 서열을 가진 모든 INDEL의 백분율이다. 평균 합계 OOF(%)는 HAO1 코딩 서열이 프레임을 벗어난 모든 대립유전자의 평균 백분율이다. NGS 시퀀싱 판독의 총 수가 제공되어 있다.

[0258] 군 2 마우스에게 가이드 RNA mH364-7-1이 캡슐화된 LNP를 투여하였다. 군 3 마우스에게 가이드 RNAmH364-7-35가 캡슐화된 LNP를 투여하였다. 군 4 마우스에게 가이드 RNA mH364-20-1이 캡슐화된 LNP를 투여하였다. 군 5 마우스에게 가이드 RNAmH364-20-35가 캡슐화된 LNP를 투여하였다. 군 2 내지 5의 모든 마우스에게는, 주사 전에 가이드 RNA 함유 LNP와 1:1 RNA 질량비로 혼합된 MG3-6/3-4 mRNA가 캡슐화된 LNP를 투여하였다. PBS 완충액을 주입한 마우스의 간에서는 INDEL이 검출되지 않았다(표 11 참조). 가이드 364mHA-G7-1 및 MG3-6/3-4 mRNA가 캡슐화된 LNP를 주입한 마우스는 HAO-1의 표적 부위에서 53.0%의 평균 빈도로 INDEL을 나타냈다. 가이드 364mHA-G7-35 및 MG3-6/3-4 mRNA가 캡슐화된 LNP를 주입한 마우스는 HAO-1의 표적 부위에서 23.6%의 평균 빈도로 INDEL을 나타냈다. 가이드 364mHA-G20-1 및 MG3-6/3-4 mRNA가 캡슐화된 LNP를 주입한 마우스는 HAO-1의 표적 부위에서 8.9%의 평균 빈도로 INDEL을 나타냈다. 가이드 364mHA-G20-35 및 MG3-6/3-4 mRNA가 캡슐화된 LNP를 주입한 마우스는 HAO-1의 표적 부위에서 2.5%의 평균 빈도로 인텔을 나타냈다. 이들 데이터는, 동일한 화학적 변형을 가진 가이드를 비교할 때, 스페이서 7을 가진 가이드(364mHA-G7-1 및 364mHA-G7-35)가 스페이서 20을 가진 가이드(364mHA-G20-1 및 364mHA-G20-35)보다 생체 내에서 상당히 더 강력하다는 것을 입증한다. 이는 mRNA-기반 형질 감염에 의해 Hepa1-6 세포 내 이들 2가지 가이드 서열에서 관찰된 더 높은 수준의 편집과 일치한다(Hepa1-6 세포에서 mH364-7은 46% INDEL을 나타내고 mH364-20은 26% INDEL을 나타냄). 가이드 화학물질 #1은 가이드 7(화학물질 #1의 경우 2.2배 더 높은 편집) 및 가이드 20(화학물질 #1의 경우 3.5배 더 높은 편집) 둘 다에 대해 화학물질 #3보다 편집 수준이 더 높았다. 이들 데이터는 MG3-6/3-4 뉴클레아제가 마우스의 생체 내에서 sgRNA에 의해 명시된 표적 부위에서 편집할 수 있음을 입증한다. 또한, 화학물질 #1로 지정된 화학적 변형 세트는 sgRNA가 LNP를 사용하여 전달될 때, 이는 전체 간에서 게놈 DNA의 53%에서 편집을 촉진할 수 있었다. 이들 연구에 사용된 LNP는 저밀도 지단백질 수용체에 결합하기 위한 리간드인 LNP에 대한 아포지질단백질 E(apoE)를 결합

시켜 흡수된다(예를 들어, Yan 등의 문헌[Biochem Biophys Res Commun 2005 328(1):57-62.doi: 10.1016/j.bbrc.2004.12.137], Akinc 등의 문헌[Mol Ther 2010 (7):1357-64, doi: 10.1038/mt.2010.85] 참조).

[0259] 간은 다수의 상이한 세포 유형으로 구성된다. 마우스의 간에서, 간세포는 모든 세포의 약 52%를 이루고(간세포의 35%는 2개의 핵을 함유함), Kupffer 세포(18%), Ito 세포(8%), 및 내피 세포(22%)가 나머지 세포를 이룬다(Histochem Cell Biol 131, 713-726 <https://doi.org/10.1007/s00418-009-0577-1>). 이론에 구속되고자 하는 것은 아니지만, 추론에 의하면, 마우스 간에서 전체 핵의 약 60%(((52 + (0.35 x 52)) / (48+(52+ (0.35 x 52))))가 간세포로부터 유래될 것으로 예측된다. LDL 수용체는 간 내 간세포 상에서 주로 발현되기 때문에(예를 들어, https://www.proteinatlas.org/ENSG00000130164-LDLR/tissue/liver#imid_2815831 참조), 본원에 기술된 마우스 연구에 사용된 LNP는 간세포에 의해 주로 흡수될 것으로 예상된다. 간세포 핵은 마우스의 전체 간에서 전체 핵의 약 60%를 이루므로, 모든 간세포 핵을 편집하는 경우, 전체 간에서 측정되는 INDEL의 수준은 약 60% 일 것으로 예측할 수 있다. MG3-6/3-4의 LNP 전달이 53%의 INDEL 비율을 달성할 수 있다는 소견은 대부분의 간세포 핵이 편집되었음을 시사한다.

[0260] HA01 유전자는 글리콜레이트 대사에 관여하는 세포내 효소인 단백질 글리콜레이트 산화효소(GO)를 암호화한다. HA01 유전자에서 관찰된 유전자 편집이 간에서 GO 단백질의 발현을 감소시키는지 여부를 결정하기 위해, 동일한 연구에서의 마우스의 별도의 간 염으로부터 총 단백질을 추출하였다. GO 단백질은 마우스 GO 단백질에 대한 상업적으로 이용 가능한 항체를 이용해 웨스턴 블롯 검정을 사용하여 검출하였다. 웨스턴 블롯 상에서의 로딩 대조군으로서 단백질 빈쿨린을 사용하였는데, 이는 빈쿨린 수준이 HA01 유전자의 유전자 편집에 의해 영향을 받지 않을 것으로 예측되기 때문이다. 도 24에 도시된 바와 같이, GO 단백질의 수준은 MG3-6/3-4 mRNA 및 HA01을 표적으로 하는 sgRNA가 캡슐화된 LNP로 치료한 마우스의 간에서 유의하게 감소하였다. 이미지 분석 소프트웨어(Biorad)를 사용한 웨스턴 블롯의 정량화, 및 빈쿨린 수준에 대한 GO의 정규화는, sgRNA mH364-7-1, mH364-7-35, mH364-20-1, 및 mH364-20-35로 각각 치료한 마우스에서 GO 수준이 평균 75%, 58%, 4%, 및 24%만큼 각각 감소하였음을 입증하였다. GO 단백질의 감소 정도는 이들 마우스 군의 INDEL 빈도와 상관된다(표 11 참조). 이들 데이터는, 적절하게 설계된 sgRNA와 조합된 MG3-6/3-4 뉴클레아제가 살아있는 포유동물의 생체 내에서 관심 유전자에서 인델을 생성하고, 해당 유전자에 의해 암호화된 단백질의 생산을 감소(녹다운)시키는 데 사용될 수 있음을 입증한다. 특이적 유전자의 발현을 감소시키는 것은 특정 질환에서 치료적으로 유의할 수 있다. GO 단백질을 암호화하는 HA01 유전자의 경우, 간에서 GO 단백질 수준의 감소는 유전성 질환인 원발성 고옥살산뇨증 I형 환자에게 유의할 것으로 예상된다(Martin-Higuera의 문헌[Mol. Ther. 24, 719-725]). 따라서, HA01 유전자를 표적으로 하는 적절한 화학적 변형을 함유하는 적절한 sgRNA와 함께 MG3-6/3-4 뉴클레아제는 원발성 고옥살산뇨증 I형의 치료를 위한 가능한 접근법이다.

[0261] 실시예 19 - 4개의 상이한 화학적 변형을 갖는 동일한 가이드 RNA 서열을 사용한 마우스에서 MG3-6/3-4 유전자 편집 효율의 비교

[0262] 동일한 가이드 RNA 서열에 도입된 4개의 상이한 가이드 화학물질을 시험함으로써 sgRNA에 대한 화학적 변형이 생체 내 편집 효율에 미치는 영향을 추가로 조사하였다. 마우스 HA01 유전자를 표적화하는 가이드 RNA 7을 화학적 변형 #1, #35, #42, 또는 #45와 합성하였다. 이들 가이드의 서열은 아래 표 12에 나타나 있다.

표 12

[0263] 마우스 HA01을 표적으로 하는 MG3-6/3-4 sgRNA 가이드 7의 서열

가이드 명칭	서열 번호	서열
mH364-7-1	723	mG*mA*mG*CUGGCCACUGUGCGAGGUAGUAGAGAAUCGAAAGAUUCUUAUAAGGCAUCCUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUCCAUAAGGAGCGGGCGGUAUGU*mU*mU*mU
mH364-7-35	725	mG*mA*mG*mC*UGGCCACUGUGCGAGGUAGUAGAGAAUCmG*mA*mA*GAUUCUUAUAAGGCAUCmC*mU*mU*mC*mC*GAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUCCmA*mA*mU*mA*GGAGCGGGCGGUA*mU*mG*mU*mU
mH364-7-42	731	mG*mA*mG*mC*fUfGfGfCfCfAfCfUfGfUfGfCfGfAfGfGfUAGUUGAGAAUCG*A*A*GAUUCUUAUAAGGCAUCC*U*U*C*C*GAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUCCA*A*U*A*GGAGCGGGCGGUA*mU*mG*mU*mU
mH364-7-45	732	mG*mA*mG*mC*fUfGfGfCfCfAfCfUfGfUfGfCfGfAfGfGfUAGUUGAGAAUCmG*mA*mA*GAUUCUUAUAAGGCAUCmC*mU*mU*mC*mC*GAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUCCmA*mA*mU*mA*GGAGCGGGCGGUA*mU*mG*mU*mU

m: 2' -0 메틸 변형된 염기, *: 포스포로티오에이트 백분

[0264] MG3-6/3-4 뉴클레아제를 암호화하는 mRNA는 New England Biolabs 또는 Trilink Biotechnologies에서 구입한 T7 RNA 중합효소, 뉴클레오티드, 및 효소를 사용하여 선형화된 플라스미드 템플릿을 시험관 내 전사하여 생성하였다. RNA로 전사된 DNA 서열은 5' 에서 3' 방향으로 다음을 포함하였다: T7 RNA 중합효소 프로모터, 5' 미번역 영역(5' UTR), 핵 국소화 신호, 짧은 링커, MG3-6/3-4 뉴클레아제에 대한 코딩 서열, 짧은 링커, 핵 국소화 신호, 및 3' 미번역 영역(서열번호 603), 및 대략 100 뉴클레오티드의 폴리A 꼬리(서열번호 603에 포함되지 않음).

[0265] 이 MG3-6/3-4 카세트에 암호화된 합성 mRNA 내에 암호화된 단백질 서열은 5' 에서 3' 방향으로 다음 요소를 포함한다: SV40으로부터의 핵 국소화 신호, 5개의 아미노산 링커(GGGS(서열번호 733)), 개시 메티오닌 코돈이 제거된 MG3-6/3-4 뉴클레아제의 단백질 코딩 서열, 3개의 아미노산 링커(SGG), 및 뉴클레오플라스민으로부터의 핵 국소화 신호. 상업적으로 이용 가능한 알고리즘을 사용해 이 카세트의 단백질 코딩 영역의 DNA 서열을 변형시켜 인간에서의 코돈 사용을 반영하였다. 시험관 내 전사에 사용된 플라스미드에서 대략 100-뉴클레오티드의 폴리A 꼬리를 암호화하고, Trilink Biotechnologies로부터 구입한 CleanCAP™ 시약을 사용해 mRNA를 공동 전사적으로 캡핑하였다. mRNA 내 우라실을 N1-메틸 슈도우라실로 치환하였다. MG3-6/3-4 mRNA 및 가이드 RNA를 전달하기 위해 사용된 지질 나노입자(LNP) 제형은 Kauffman 등의 문헌의 포함하여 문헌에 기술된 LNP 제형에 기반한다(Kauffman 등의 문헌[Nano Lett. 2015, 15, 11, 7300-7306, <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.5b024970>]). 4개의 지질 성분을 에탄올에 용해시키고 적절한 몰비로 혼합하여 지질 작업 혼합물을 제조하였다. mRNA와 가이드 RNA를 1:1 질량비로 제형화 전에 혼합하거나, 별도의 LNP에서 제형화하고, 이를 나중에 2개의 RNA와 1:1의 질량비로 마우스에 공동 주입하였다. 어느 경우든, RNA를 100 mM 아세트산 나트륨(pH 4.0)으로 희석하여 RNA 작업 모액을 만들었다. 지질 작업 모액과 RNA 작업 모액을 미세 유체 장치(Ignite NanoAssemblers, Precision Nanosystems)에서 각각 1:3의 유속비 및 12 mL/분의 유속으로 혼합하였다. LNP를 2 내지 16시간 동안 인산염 완충 식염수(PBS)에 대해 투석한 다음, 부피 감소가 달성될 때까지 Amicon 회전 농축기(Millipore)를 사용하여 농축시켰다. LNP 제형 중 RNA의 농도는 Ribogreen 시약(Thermo Fisher)을 사용하여 측정하였다. LNP의 직경 및 다분산성(PDI)은 동적 광 산란에 의해 결정하였다. 대표적인 LNP의 직경은 65 nm 내지 120 nm 범위였고, PDI는 0.05 내지 0.20이었다. LNP를 체중 kg당 1 mg RNA의 총 RNA 투여량으로 꼬리 정맥을 통해 8 내지 12주령 C57B16 야생형 마우스에 정맥내 주입하였다(마우스당 0.1 mL). 투여 후 10일차에, 각 군에서 5마리의 마우스 중 3마리를 희생시키고, 간을 채취하고, PureLink 게놈 DNA 단리 키트(Thermo Fisher Scientific)로 제공된 분해 완충액에서 비드 비터(Omni International)를 사용해 균질화시켰다. PureLink 게놈 DNA 단리 키트(Thermo Fisher Scientific)를 사용해, 생성된 균질물로부터 게놈 DNA를 정제하고 260 nm에서 흡광도를 측정하여 정량화하였다. 완충액만 주입한 마우스로부터 정제한 게놈 DNA를 대조군으로서 사용하였다. 투여 후 28일차에, 각 군에서 나머지 2마리의 마우스를 희생시키고, 간을 채취하고, PureLink 게놈 DNA 단리 키트(Thermo Fisher Scientific)로 제공된 분해 완충액에서 비드 비터(Omni International)를 사용해 균질화시켰다. PureLink 게놈 DNA 단리 키트(Thermo Fisher Scientific)를 사용해, 생성된 균질물로부터 게놈 DNA를 정제하고 260 nm에서 흡광도를 측정하여 정량화하였다. 완충액만 주입한 마우스로부터 정제한 게놈 DNA를 대조군으로서 사용하였다.

[0266] 그런 다음, 간 게놈 DNA를 2개의 가이드에 의해 표적화된 영역의 측면에 위치하는 제1 세트의 프라이머를 사용해 PCR 증폭시켰다. 사용된 PCR 프라이머는 표 10에 나타나 있다. 이들 프라이머의 5' 말단은, 두 번째 PCR에 사용된 PCR 프라이머에 상보적인 보존된 영역에 이어서, 서열 다양성을 제공하고 MiSeq 시퀀싱 품질을 개선하기 위한 5 N을 포함하고, 마우스 게놈의 표적 영역에 상보적인 서열로 종결된다. 100 ng의 게놈 DNA를 대상으로 Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix(New England Biolabs)를 사용하여 60°C의 어닐링 온도에서 총 30 사이클 동안 PCR을 수행하였다. 이어서, MiSeq 기기를 이용한 차세대 시퀀싱을 위한 고유한 이중 Illumina 바코드(IDT)를 추가하도록 설계된 프라이머를 사용하여 두 번째 라운드의 PCR 10 사이클을 수행하였다. 150 bp의 쌍단부 판독을 사용해 각각의 샘플을 10,000 판독을 초과하는 심도로 시퀀싱하였다. 판독을 병합하여 250 bp의 단일 서열을 생성하고, 이로부터 독립적인 Python Script를 사용하여 인델 백분율과 INDEL 프로파일을 계산하였다.

[0267] 편집 결과는 도 25에 요약되어 있고, 표 13에 도표화되어 있다.

표 13

MG3-6/3-4 mRNA 및 HAO-1 유전자를 표적화하는 가이드 RNA 7(각각 화학적 변형 42, 45, 1, 및 35를 가진 mH364-7-42, mH364-7-45, mH364-7-1, 및 mH364-7-35)이 캡슐화된 LNP로 치료한 개별 마우스의 전체 간에서 HAO-1 유전자에서의 게놈 편집 빈도					
일	mH364 가이드 7 화학물질	마우스	인델 (%)	평균 균 INDEL	표준 편차
10	PBS 대조군	1	0.01	0.0	0.0
10	PBS 대조군	2	0.01		
10	PBS 대조군	3	0.01		
28	PBS 대조군	4	0.02		
28	PBS 대조군	5	0.02		
10	42	6	33.54	32.4	2.5
10	42	7	28.48		
10	42	8	31.3		
28	42	9	34.43		
28	42	10	34.19		
10	45	11	29.22	32.1	5.8
10	45	12	37.04		
10	45	13	37.24		
28	45	14	33.57		
28	45	15	23.63		
10	1	16	42.04	46.1	3.1
10	1	17	45.38		
10	1	18	50.8		
28	1	19	46.31		
28	1	20	45.98		
10	35	21	24.95	26.6	2.3
10	35	22	29.93		
10	35	23	24.75		
28	35	24	28.14		
28	35	25	25.22		

[0269]

PBS 완충액을 주입한 대조군 마우스는 가이드 7에 대한 표적 부위에서 측정 가능한 INDEL을 함유하지 않았다. 가이드 mH364-7-1, mH364-7-35, mH364-7-42, 및 mH364-7-45를 함유하는 LNP를 투여한 마우스에서의 평균 INDEL 빈도는 각각 46.1%, 26.6%, 32.4%, 및 32.1%였으며, 이는 가이드 RNA 화학물질 #1이 가장 강력했고, 이어서 #42 및 #45가 그 다음이고, 화학물질 #35가 가장 덜 효과적이었음을 입증한다. 이들 데이터는, 가이드 RNA의 5' 및 3' 말단에서 염기 및 백본에 대한 화학적 변형이 시험된 화학물질 중에서 가장 높은 생체 내 효능을 제공하였음을 시사한다. 내부 염기의 추가적인 변형은 생체 내 효능을 개선시키지 않았다. 이들 소견은 sgRNA의 양 단부 및 내부 서열에서의 염기 또는 백본의 변형이 최적의 생체 내 편집을 위해 요구되고(Yin 등의 문헌 [Nature Biotechnology, doi:10.1038/nbt.4005]), sgRNA의 5' 및 3' 말단만을 변형하는 경우, 유사한 LNP 전달을 사용할 때, 간에서 낮은 수준의 편집(20% INDEL)을 가능하게 한다는 spCas9 sgRNA에 대한 공개된 데이터와 대조적이다.

[0270]

전체 RNA를 표 13에 기술된 것과 동일한 마우스 유래의 간의 별도 염으로부터 정제하고, 디지털 액적 PCR(dd-PCR)에 의해 HAO-1 mRNA의 수준을 측정하는 데 사용하였다. PBS가 주입된 마우스를 대조군으로서 사용하였고, 편집된 마우스의 간에서 HAO-1 mRNA의 수준을 이들 대조군과 비교하였다. dd-PCR 검정은 표준 기술을 사용하여 설계되고 최적화되었다. ddPCR은 복합체 혼합물에서 특정 핵산의 절대 카피 수를 결정하기 위한 매우 정확한 방법이다.(예: Taylor 등의 문헌[Sci Rep 7, 2409 (2017)]. doi:10.1038/s41598-017-02217-x). 먼저, 전체 간 RNA를 역전사에 의해 cDNA로 변환한 다음, 샘플 간의 정규화를 위한 내부 대조군으로서 GAPDH를 사용하여 dd-PCR 검정에서 정량화하였다. 표 14에 나타낸 바와 같이, MG3-6/3-4 mRNA 및 마우스 HAO1 유전자를 표적으로 하는 sgRNA가 캡슐화된 LNP로 치료한 개별 마우스에서 HAO1 mRNA의 수준이 감소하였으며, 감소의 정도는 INDEL 빈도와 상관되었다.

표 14

[0271]

MG3-6/3-4 mRNA 및 HAO-1 유전자를 표적화하는 가이드 RNA 7(각각 화학적 변형 42, 45, 1, 및 35를 가진 mH364-7-42, mH364-7-45, mH364-7-1, 및 mH364-7-35)이 캡슐화된 LNP로 치료한 개별 마우스의 전체 간에서 HAO1 mRNA 수준

수확일	mH364 가이드 7 화학 물질	마우스	HAO mRNA의 감소율 (%)	평균 군의 HAO mRNA 감소율 (%)	표준 편차
10	42	6	47.4	35.5	8.8
10	42	7	42.4		
10	42	8	29.0		
28	42	9	29.6		
28	42	10	28.9		
10	45	11	20.3	38.0	10.2
10	45	12	38.6		
10	45	13	41.8		
28	45	14	45.9		
28	45	15	43.2		
10	1	16	57.0	60.0	3.9
10	1	17	54.7		
10	1	18	62.5		
28	1	19	63.1		
28	1	20	62.6		
10	35	21	18.3	23.4	20.8
10	35	22	-2.5		
10	35	23	14.8		
28	35	24	52.6		
28	35	25	33.8		

표 10의 동일한 마우스를 분석하였다.

[0272]

sgRNA mH364-7-1로 치료한 마우스 군에서 HAO1 mRNA의 가장 큰 감소가 관찰된 반면, sgRNA mH364-7-35로 치료한 마우스에서 HAO-1 mRNA의 가장 작은 감소가 관찰되었다. 넌센스 매개 붕괴로 불리는 메커니즘을 통해 프레임 이동 돌연변이가 유전자의 코딩 서열 내로 도입될 때 HAO1 mRNA의 감소가 발생할 수 있다(Brogna 등의 문헌[*Nat Struct Mol Biol* **16**, 107-113 (2009)], doi:10.1038/nsmb.1550). MG3-6/3-4로 HAO-1 유전자가 편집된 마우스의 간에서 HAO-1 mRNA의 감소가 관찰된 것은 표 15에 나타난 바와 같이 높은 속도의 프레임 이동을 초래하는 INDEL이 존재하는 것과 일치한다.

표 15

[0273]

MG3-6/3-4 mRNA 및 HAO-1 유전자를 표적으로 하는 sgRNA 7번(G7)이 캡슐화된 LNP로 치료한 마우스의 간에서 프레임 이동을 초래하는 편집 빈도의 분석

치료	평균 INDEL	INDEL의 표준 편차	평균 OOF (%) 합계	표준 편차 OFF (%) 합계
PBS 대조군	0.0	0.0	0.0	0.0
mH364-7-42	31.1	2.1	28.6	1.7
mH364-7-45	34.5	3.7	31.2	3.2
mH364-7-1	46.1	3.6	41.9	3.4
mH364-7-35	26.5	2.4	24.3	2.5

프레임 이탈 백분율(OOF (%))은 맞춤형 알고리즘을 사용해 NGS 데이터를 분석함으로써 계산하였다.

[0274]

표 15에서, HAO1 코딩 서열에서 프레임 이동을 초래하는 INDEL의 평균 빈도를 NGS 데이터로부터 결정하였다. 이 분석은 대부분의 INDEL이 시험된 4개의 sgRNA 모두에 대해 프레임 이동을 초래하였음을 보여준다.

[0275]

HAO1 유전자는 글리콜레이트 대사에 관여하는 세포내 효소인 단백질 글리콜레이트 산화효소(GO)를 암호화한다. HAO1 유전자에서 관찰된 유전자 편집이 간에서 GO 단백질의 발현을 감소시키는지 여부를 결정하기 위해, 도 25 및 표 13~15에 기술된 동일한 연구에서의 마우스의 별도의 간엽으로부터 총 단백질을 추출하였다. GO 단백질은

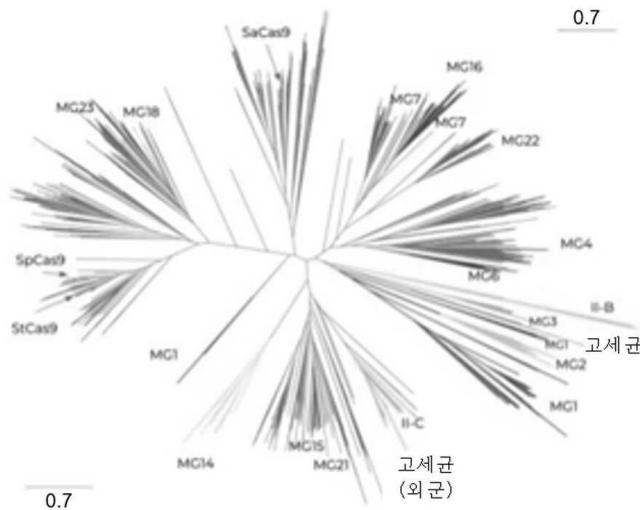
마우스 GO 단백질에 대한 상업적으로 이용 가능한 항체를 이용해 웨스턴 블롯 검정을 사용하여 검출하였다. 동일한 양의 단백질을 웨스턴 블롯 상에 로딩하였다. 도 25에 도시된 바와 같이, GO 단백질의 수준은 MG3-6/3-4 mRNA 및 HAO1을 표적으로 하는 sgRNA가 캡슐화된 LNP로 치료한 마우스의 간에서 감소하였다. 가이드 mH364-7-42(마우스 7, 8), mH364-7-45(마우스 12, 13), 및 mH364-7-1(마우스 17, 18)은 GO 단백질의 명백한 감소를 초래하였다. 시험된 4개의 가이드 중 INDEL 수준이 가장 낮은 가이드 mH364-7-35(마우스 22, 23)는 GO 단백질 수준을 눈에 띄게 감소시키지 않았다. 이들 데이터는, 적절하게 설계된 sgRNA와 조합된 MG3-6/3-4 뉴클레아제가 살아있는 포유동물의 생체 내에서 관심 유전자에서 INDEL을 생성하고, 해당 유전자에 의해 암호화된 단백질의 생산을 감소(녹다운)시키는 데 사용될 수 있음을 입증한다. 특이적 유전자의 발현을 감소시키는 것은 특정 질환에서 치료적으로 유익할 수 있다. GO 단백질을 암호화하는 HAO1 유전자의 경우, 간에서 GO 단백질 수준의 감소는 유전성 질환인 원발성 고옥살산뇨증 I형 환자에게 유익할 것으로 예상된다(Martin-Higuera의 문헌[Mol. Ther. 24, 719-725]). 따라서, HAO1 유전자를 표적으로 하는 적절한 화학적 변형을 함유하는 적절한 sgRNA와 함께 MG3-6/3-4 뉴클레아제는 원발성 고옥살산뇨증 I형의 치료를 위한 가능한 접근법이다.

[0276]

본 발명의 바람직한 구현예가 본원에 도시되고 기술되었지만, 이러한 구현예는 단지 예시로서 제공된다는 것은 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명은 명세서 내에 제공된 특정 실시예에 의해 한정되도록 의도되지 않는다. 본 발명은 전술한 명세서를 참조하여 기술되었지만, 본원의 구현예의 설명 및 예시는 한정적인 의미로 해석되는 것을 의미하지는 않는다. 이제 본 발명을 벗어나지 않고도 많은 변이, 변화, 및 치환이 당업자에게 일어날 것이다. 또한, 본 발명의 모든 양태는 다양한 조건 및 변수에 따라 달라지는 본원에 제시된 특정 도시, 구성, 또는 상대 비율로 한정되지 않음을 이해할 것이다. 본원에 기술된 본 발명의 구현예에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는 데 사용될 수 있음을 이해해야 한다. 따라서, 본 발명은 임의의 이러한 대안, 변형, 변이, 또는 균등물도 포괄하는 것으로 고려된다. 다음의 청구범위는 본 발명의 범위를 정의하고, 이들 청구범위의 범위에 속하는 방법 및 구조와 이들의 등가물이 이에 의해 포괄되도록 의도된다.

도면

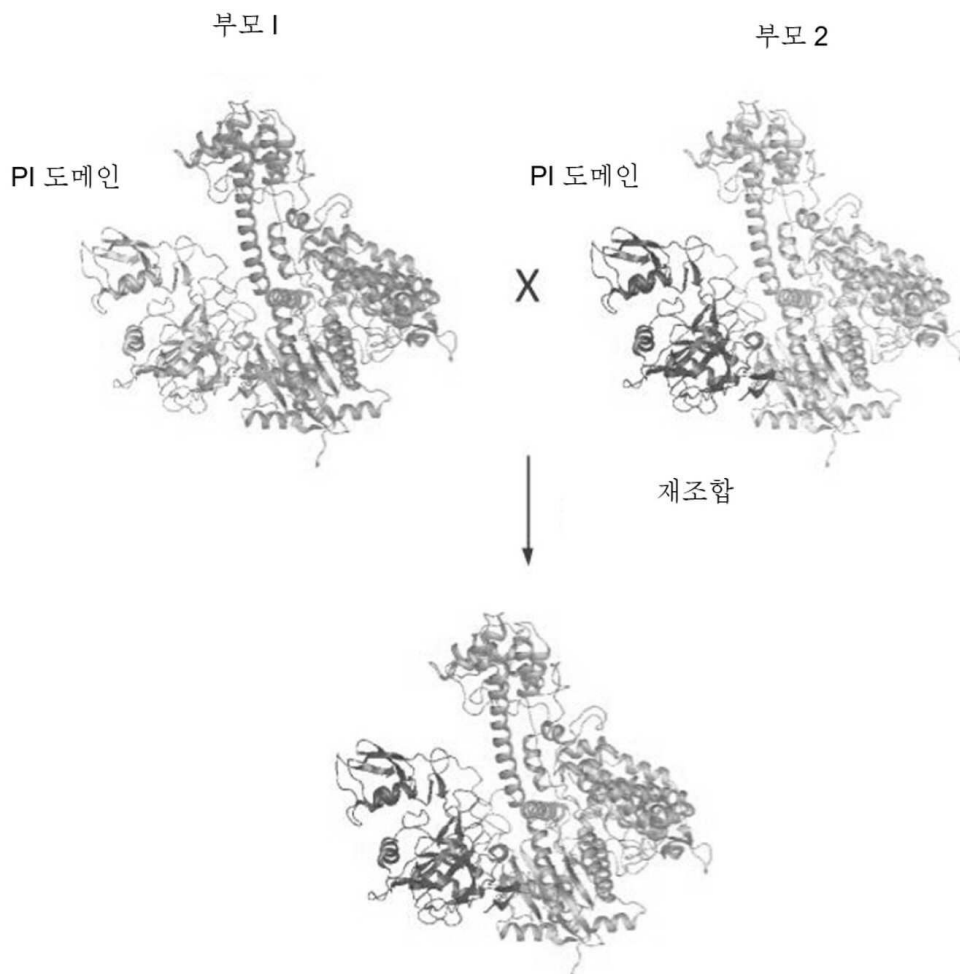
도면1a



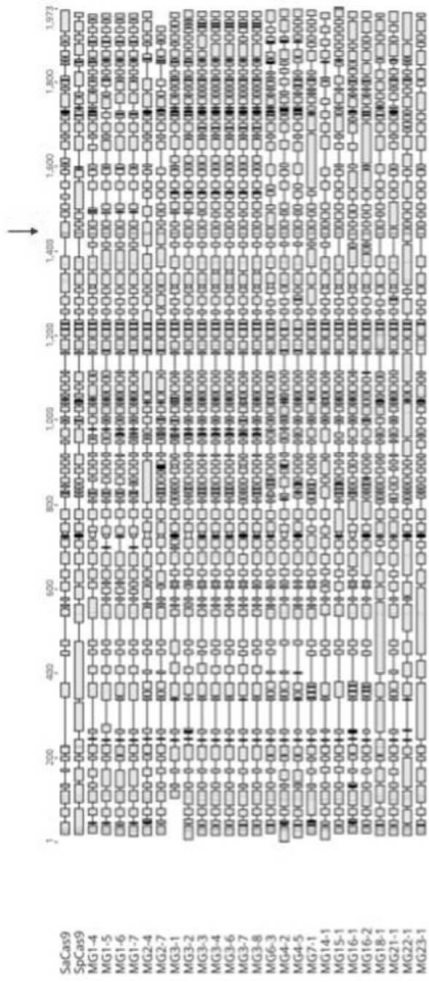
도면1b

유전자	PAM
MG1-4	nRRR
MG1-5	nnnnYY
MG1-6	nnRRAY
MG1-7	nRRRAAG
MG2-4	nAGG
MG2-7	nnnRTA
MG3-1	해당 없음
MG3-2	해당 없음
MG3-3	nnnCCYR
MG3-4	nnAAAABn
MG3-6	nnRGGnT
MG3-7	nnRnYAY
MG3-8	nnRGTY
MG4-2	YRnMCC
MG4-5	nRCCV
MG6-3	nRRTA
MG7-1	nRRnCG
MG14-1	nRnnGRKA
MG15-1	CNNCNA
MG16-1	nRRnMC
MG18-1	nRWART
SpCas9	nGG
SaCas9	nGRRRT

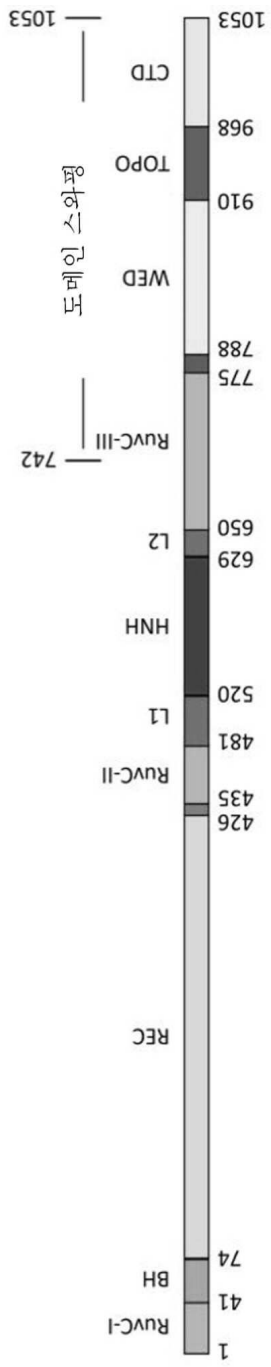
도면2



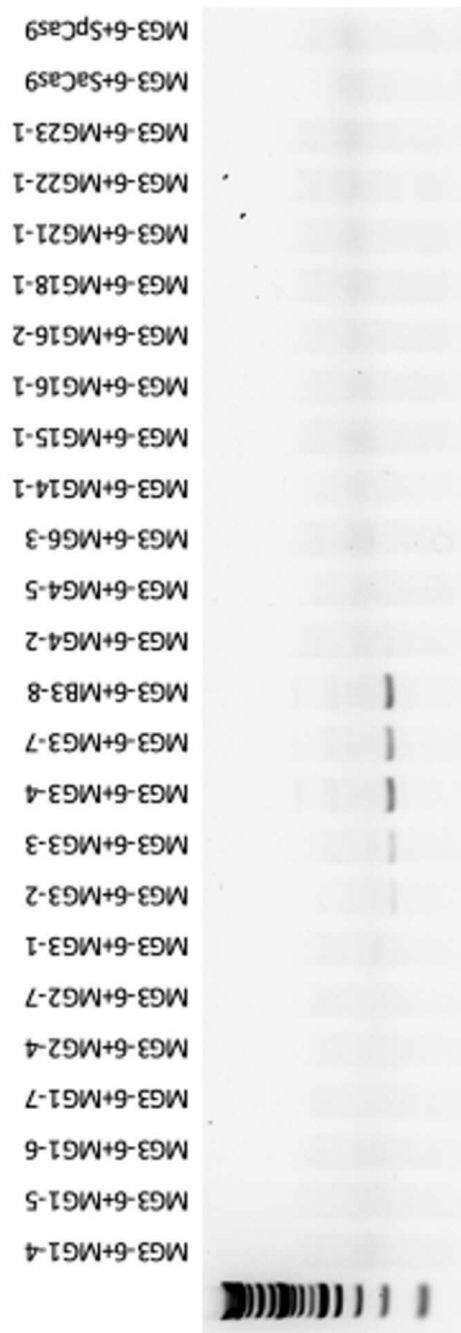
도면3a



도면39



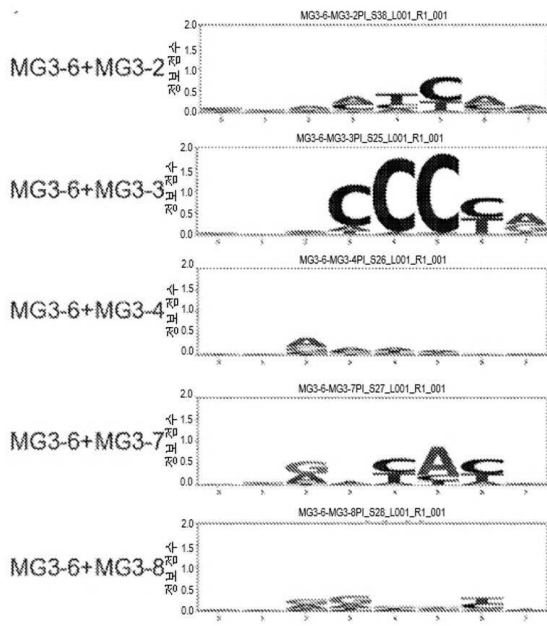
도면4



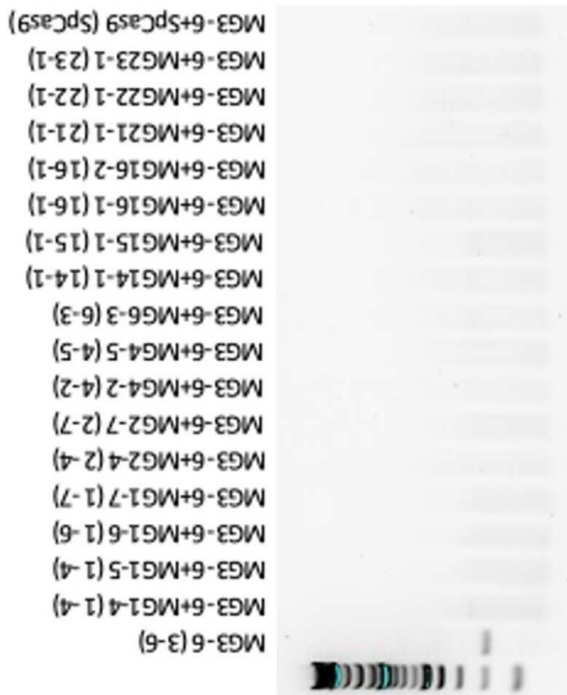
도면5a

<u>부모</u>	<u>키메라</u>
MG3-3 (nnnCCCYR)	MG3-6+MG3-2 (nnRMYYMW)
MG3-4 (nnAAAAAnn)	MG3-6+MG3-3 (nnnCCCYR)
MG3-6 (nnRGGnT)	MG3-6+MG3-4 (nnAAAAAnn)
MG3-7 (nnRnYAY)	MG3-6+MG3-7 (nnRnYAY)
MG3-8 (nnRGGTY)	MG3-6+MG3-8 (nnRGGTY)

도면5b

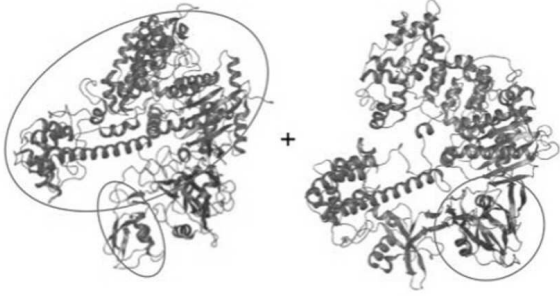


도면6

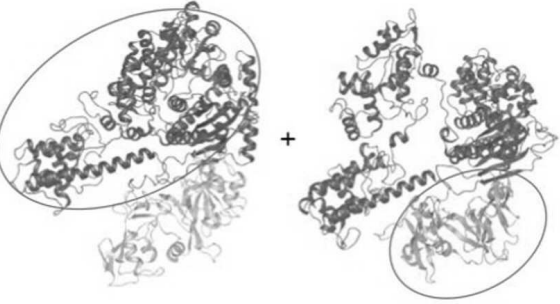


도면7

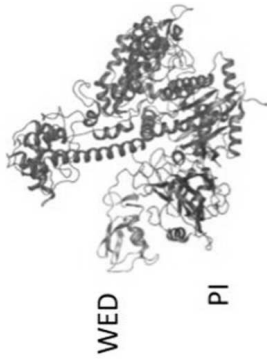
C2: MG3-6+MG15-1(P)



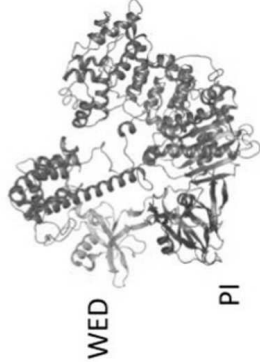
C1: MG3-6+MG15-1(WP)



야생형

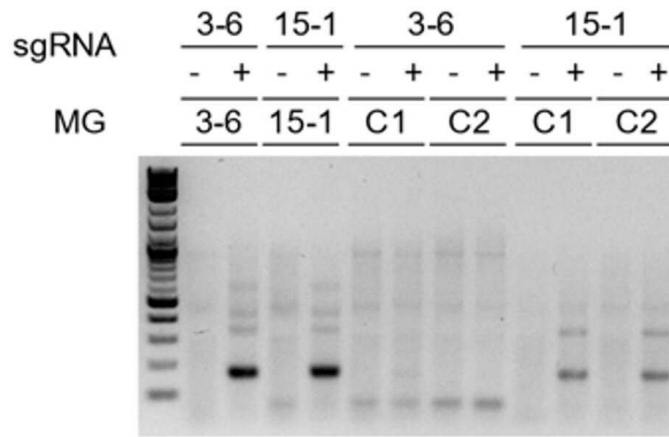


MG3-6



MG15-1

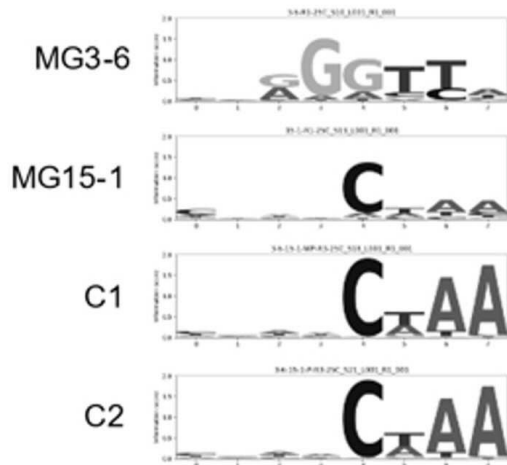
도면8a



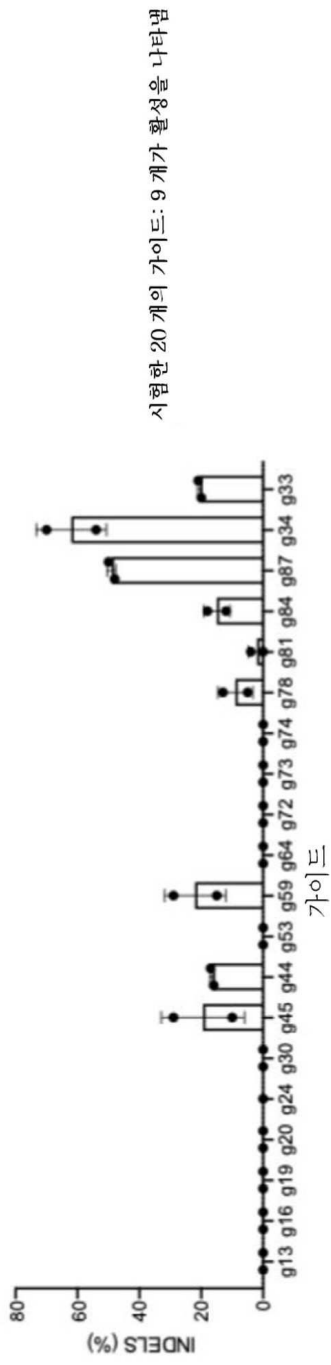
도면8b

생거 시퀀싱 결과

유전자	PAM		
	1	2	3
MG3-6	NNRGGTYA	NNRGGTYN	NNRGGTYN
MG15-1	CNNNCNAA	CNNNCNAA	CNNNCNAA
MG3-6_MG15-1(WP)	CNNNCNAA	CNANCWAA	CNANCWAA
MG3-6_MG15-1(P)		NNNCWAA	CNNNCWAA



도면9a



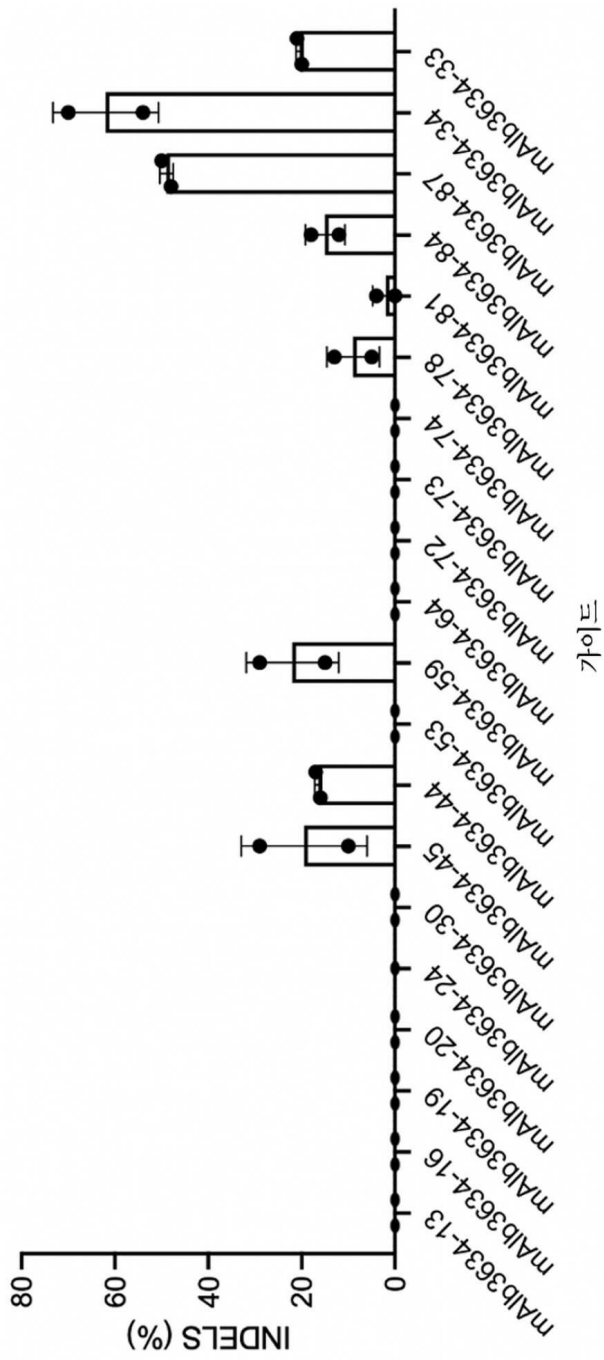
도면9b

2 개의 상이한 생물학적 복제물

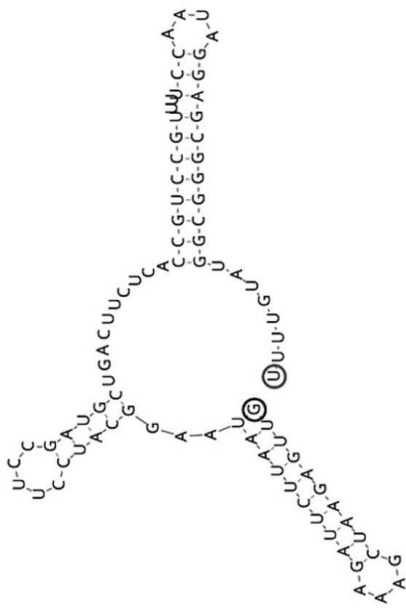


인텔은 +/- 을 선호하는 경향이 있음

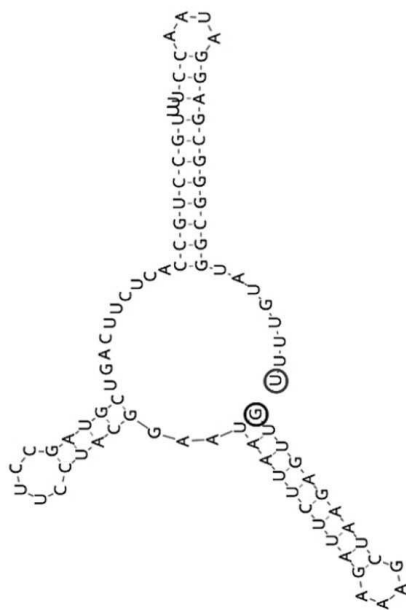
도면10



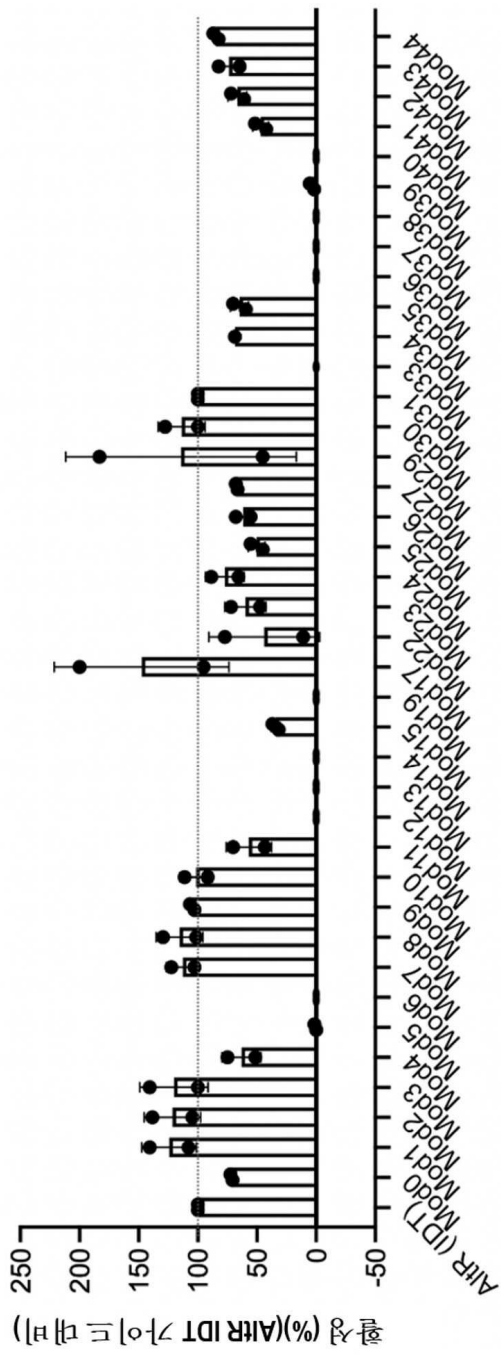
도면11a



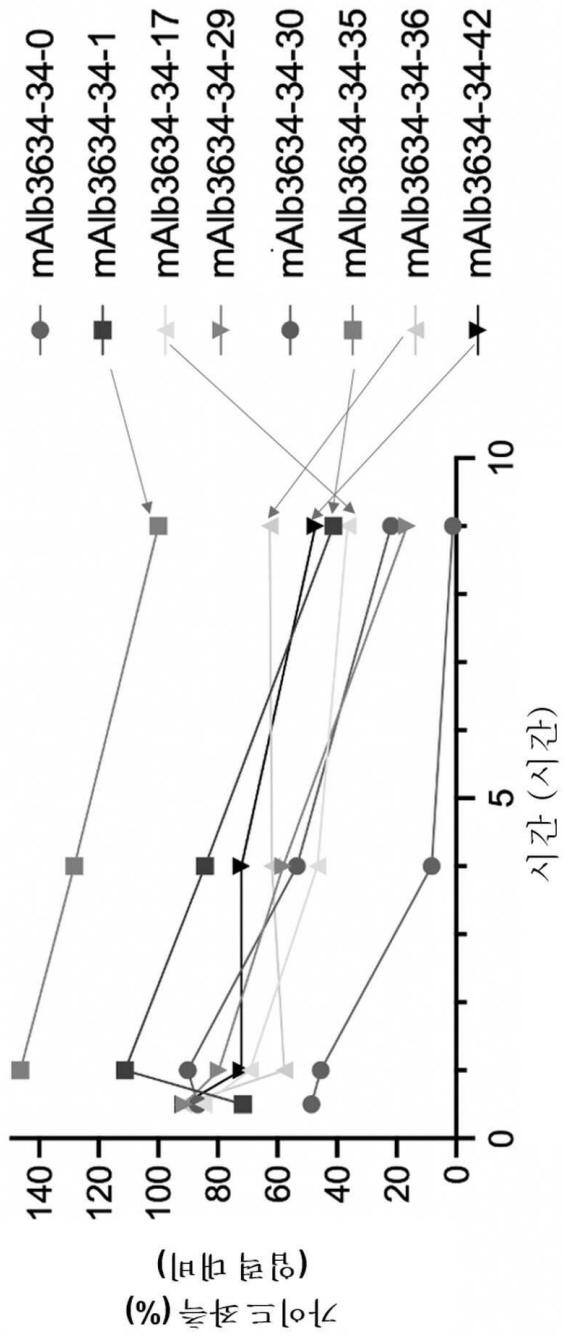
도면11b



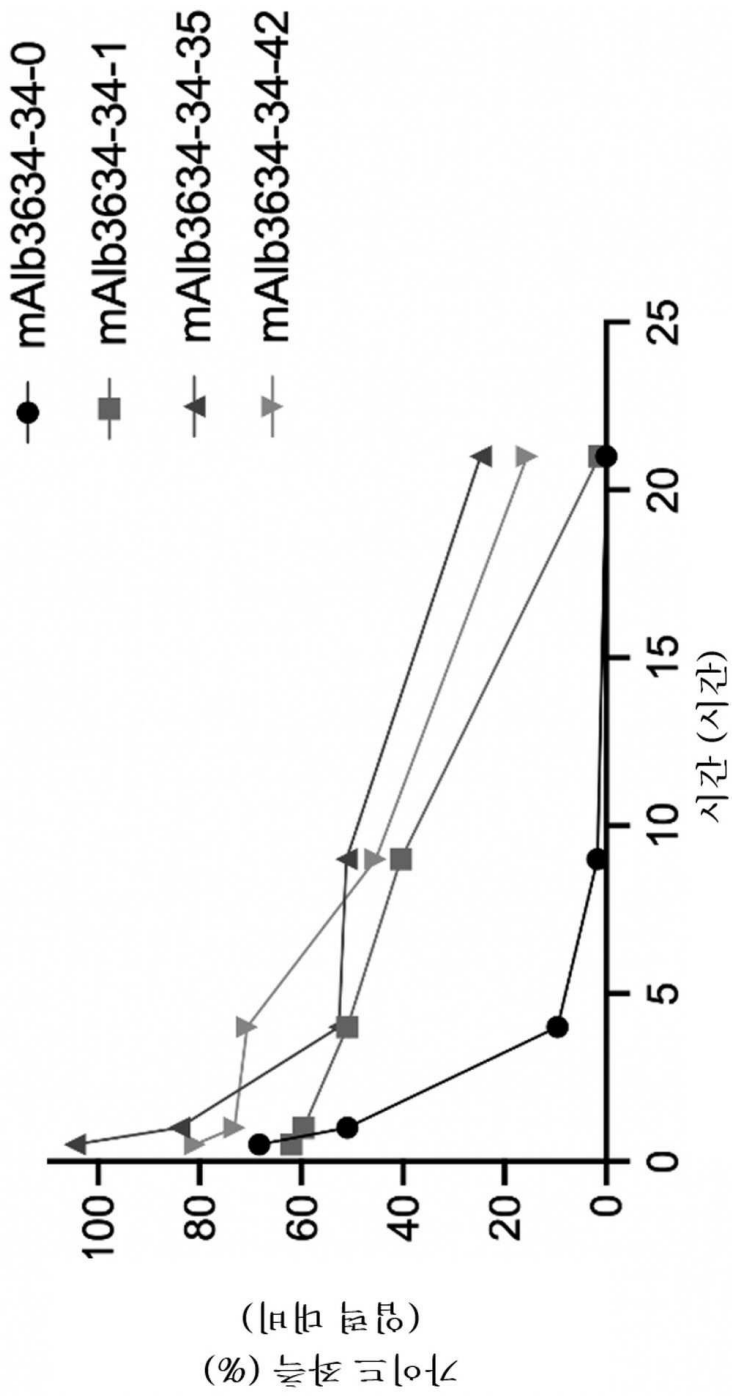
도면12



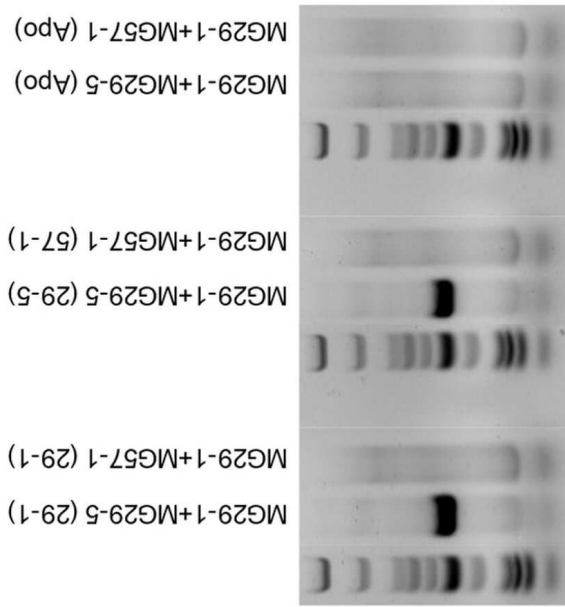
도면13



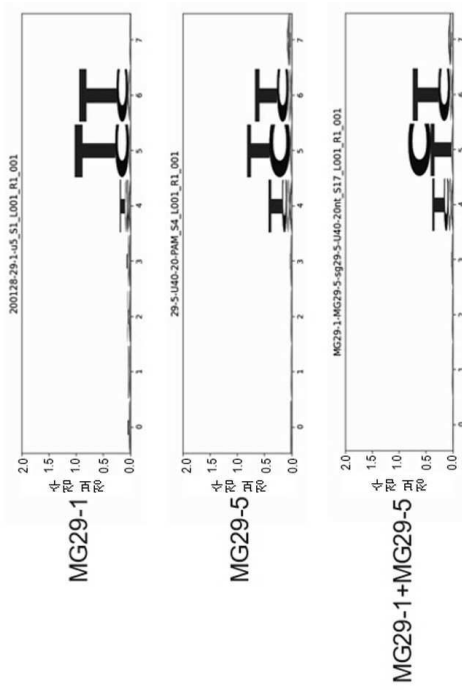
도면14



도면15a

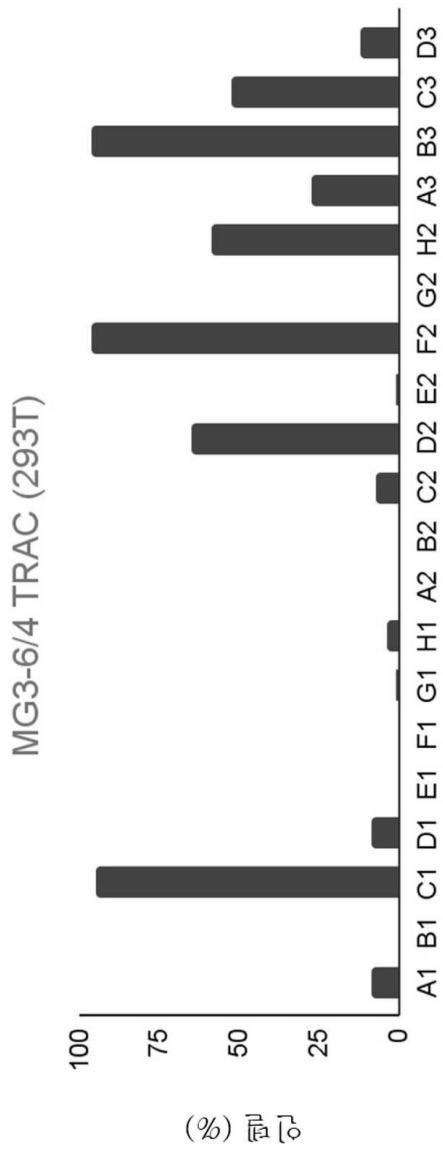


도면15b



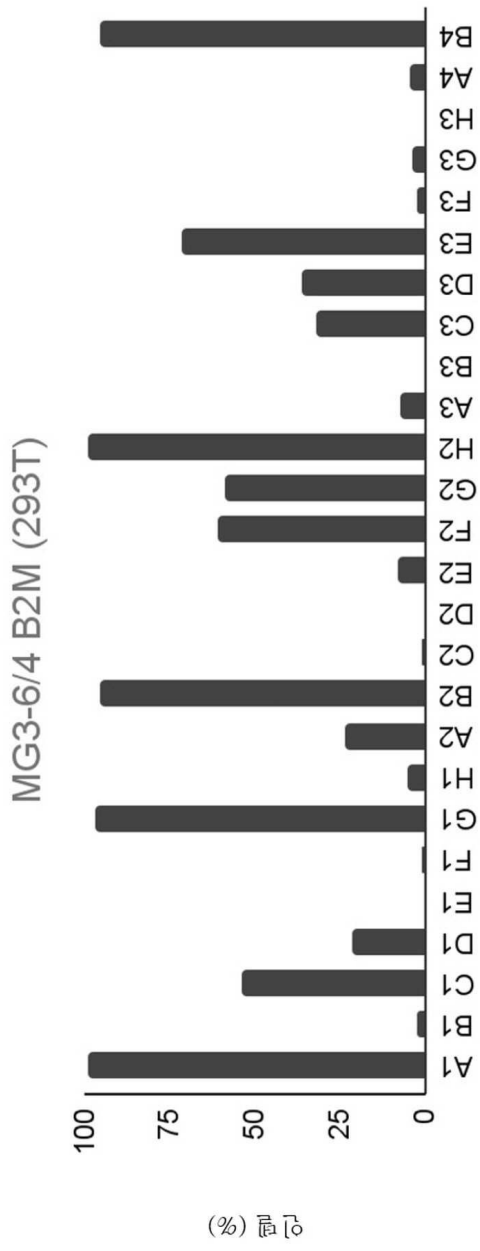
도면16

HEK293T 세포에서 TRAC MG3-6/4 스크리닝



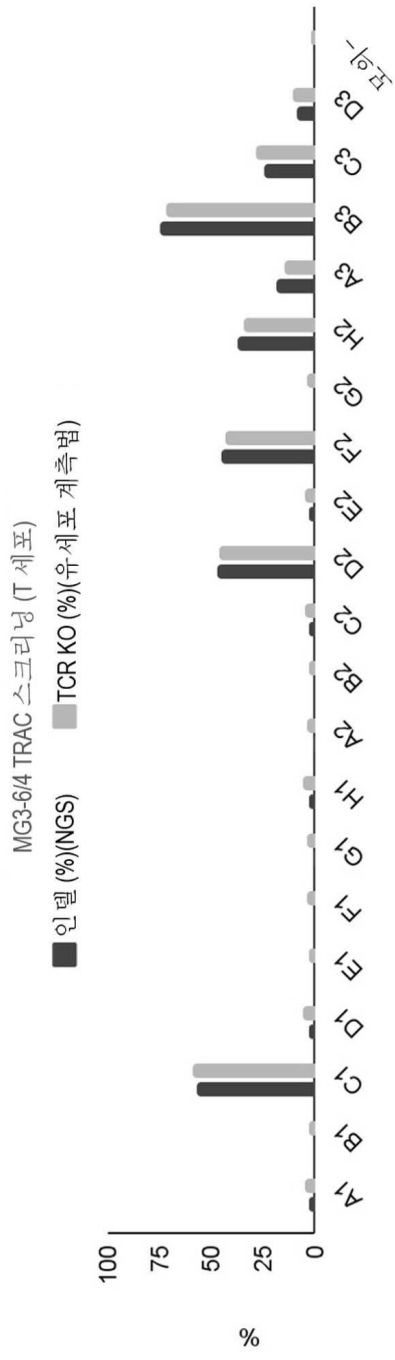
도면17

HEK293T 세포에서 B2M MG3-6/4 스크리닝



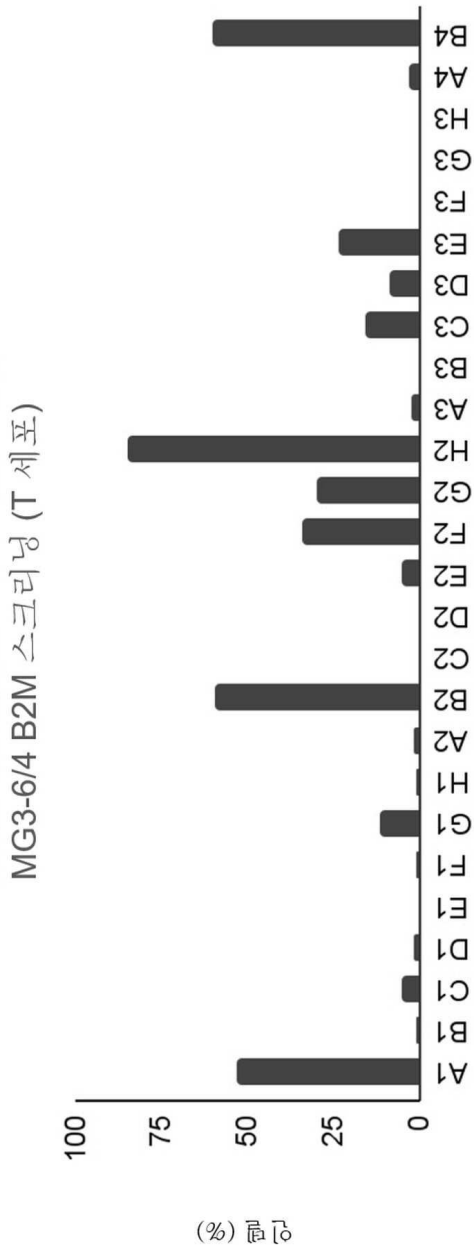
도면18

T 세포에서 TRAC MG3-6/4 스크리닝



도면19

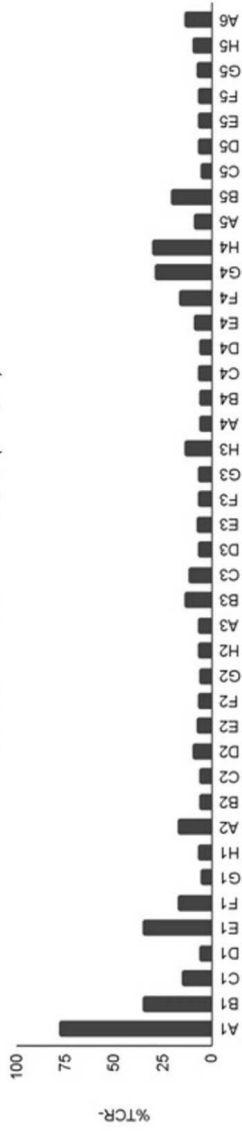
T 세포에서 B2M MG3-6/4 스크리닝



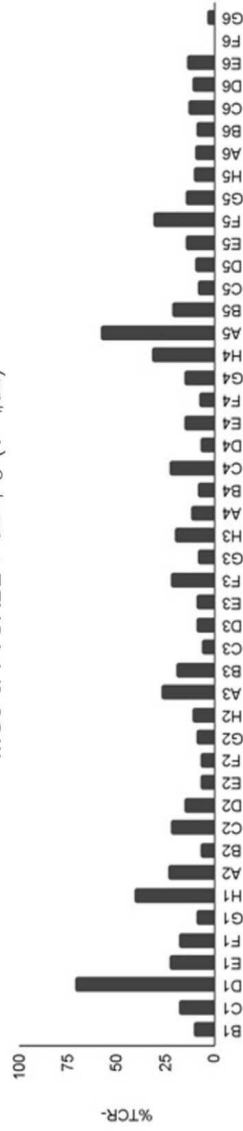
도면20

T 세포에서 TRBC 1/2 MG3-6/4 스크리닝

MG3-6/4 TRBC1 스크리닝 (T 세포)

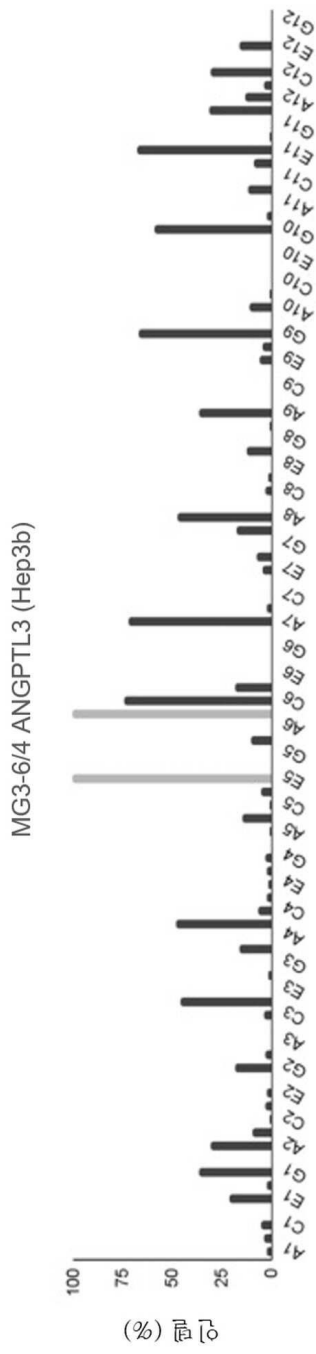


MG3-6/4 TCRB2 스크리닝 (T 세포)



도면21

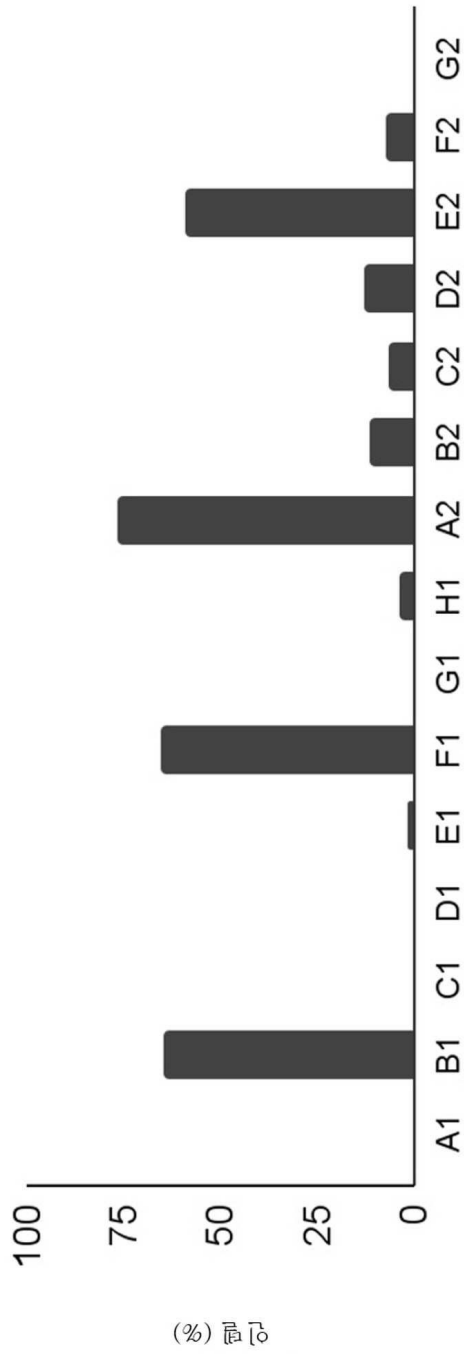
Hep3B 세포에서 ANGPTL3 MG3-6/4 스크리닝



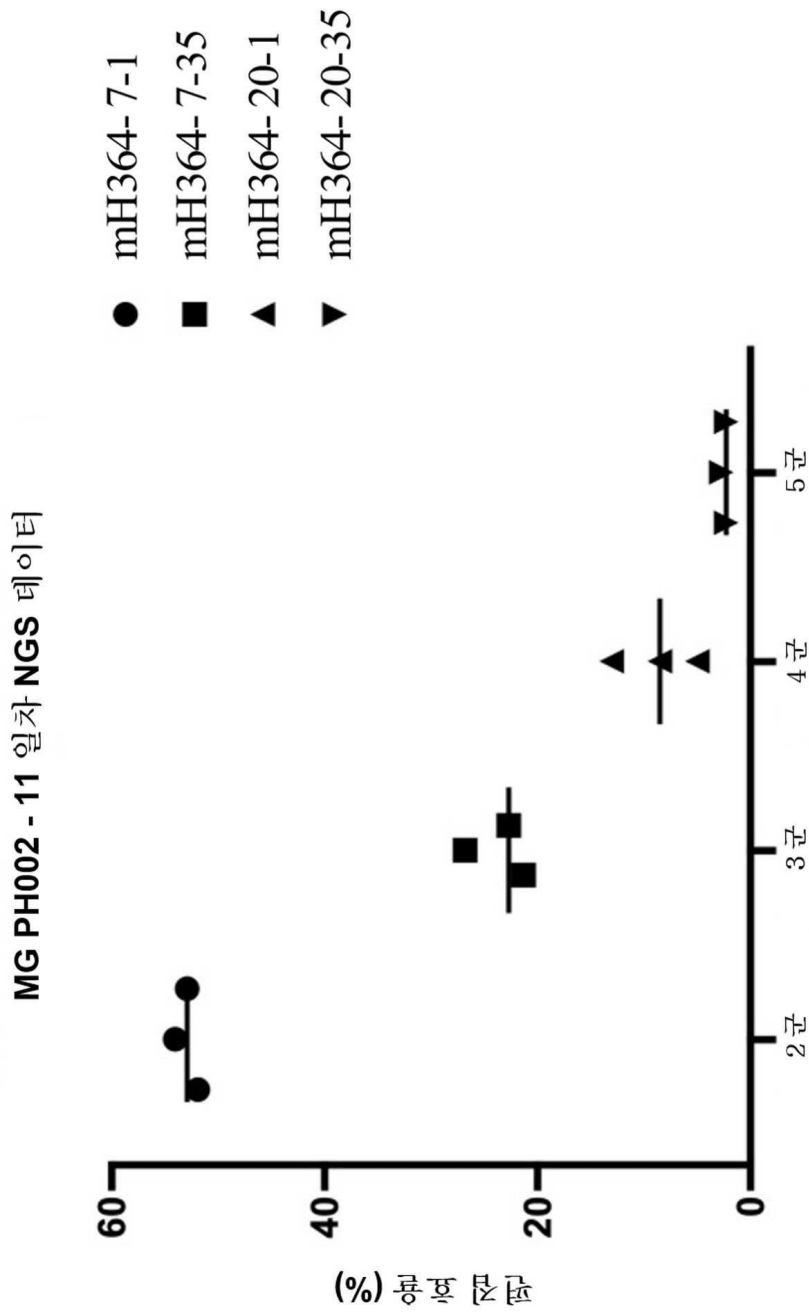
도면22

Hep3B 세포에서 PCSK9 MG3-6/4 스크리닝

PCSK9 MG3-6/4 스크리닝 (Hep3b)



도면23

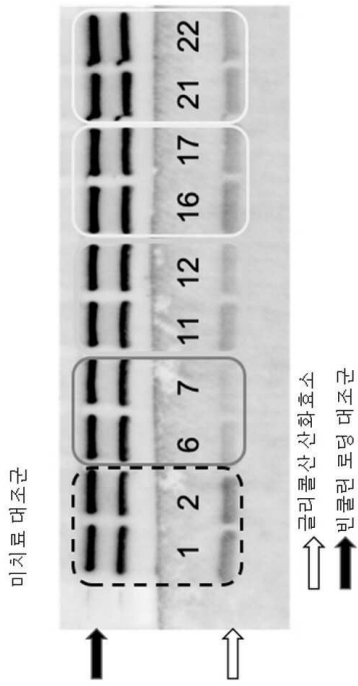


도면24

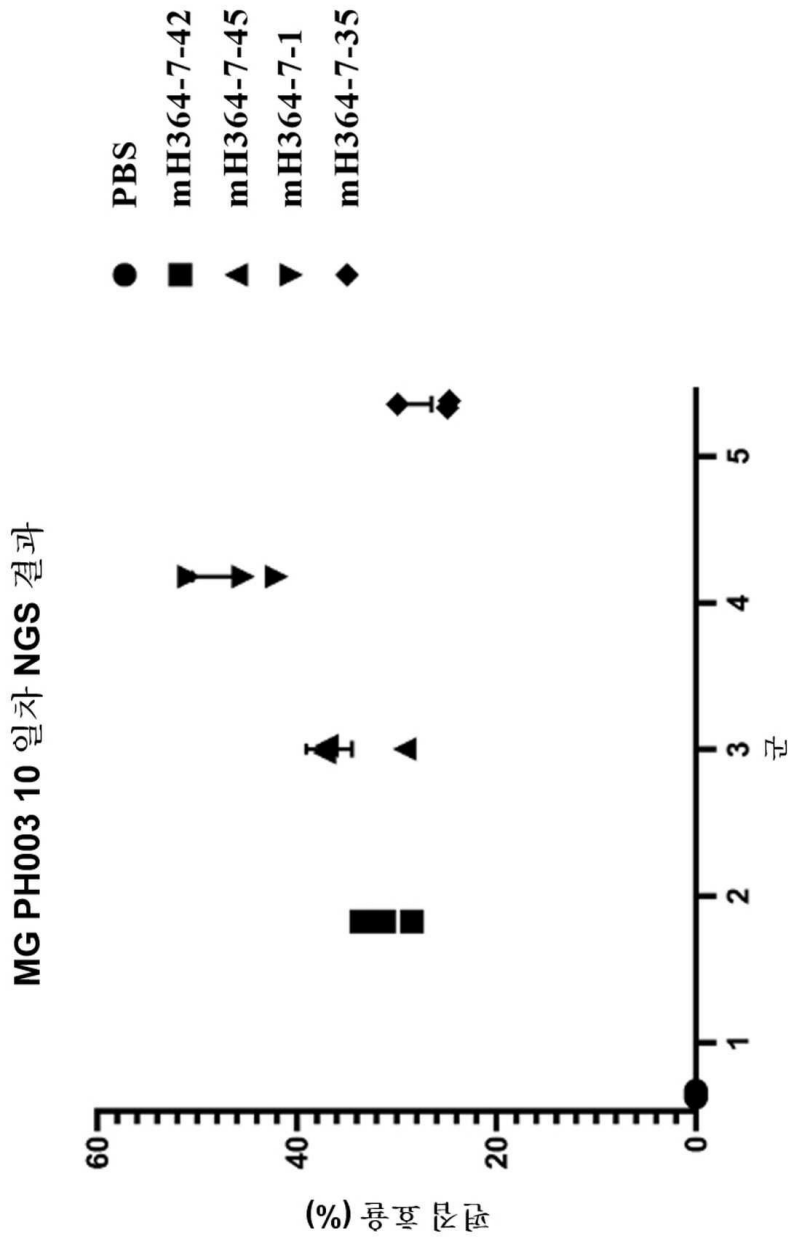
웨스턴 블롯의 정량화

가이드 RNA	화학물질	마우스	GO 단백질 녹다운 (%)	평균 GO 단백질 녹다운 (%)
mH364-7-1	1	6	65	75
		7	86	
mH364-7-35	35	11	56	58
		12	60	
mH364-20-1	1	16	4	4
		17	4	
mH364-20-35	35	21	21	24
		22	26	

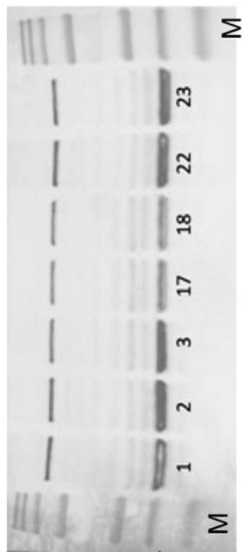
미치로 대조군의 백분율 (%)로서 빈클린에 대해 정규화된 GO 단백질 수준



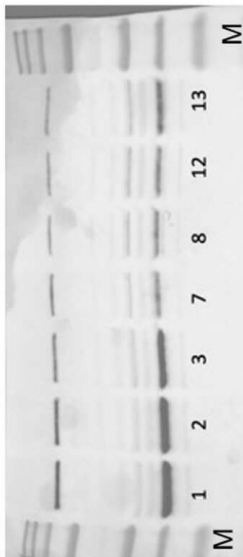
도면25



도면26



GO



GO

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> METAGENOMI, INC.

<120> NOVEL ENGINEERED AND CHIMERIC NUCLEASES

<130> 55921-717.601

<140> PCT/US2022/013396

<141> 2022-01-21

<150> 63/237,484
 <151> 2021-08-26
 <150> 63/140,620
 <151> 2021-01-22
 <160> 734
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 1018
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <220><223> Category: MG3 chimeric effectors
 <220><223> Description: MG3-6_1-4 chimera

<400> 1
 Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45
 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60

 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110
 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125

 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp

130 135 140
 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190

 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255

 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320

 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380

Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445

 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510

 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575

 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys

625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700

Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Ile Cys Ile Ser Phe Ser Arg Asp Phe Lys
 740 745 750
 Tyr Asp Lys Glu Ile Lys Lys Asp Ile Ile Lys Gly Phe Asn Pro Glu
 755 760 765

Ile Val Lys Asn Ala Ile Asp Lys Ile Met Pro Tyr Pro Tyr Ala Asn
 770 775 780
 Asp Lys Pro Phe Lys Gly Asn Thr Lys Pro Leu Glu Thr Ile Tyr Gly
 785 790 795 800
 Leu Arg Thr Tyr Gly Asp Lys Ser Tyr Ile Thr Gln Arg Val Glu Leu
 805 810 815
 Asn Ser Ile Asp Lys Lys Ala Thr Lys Ile Lys Ser Ile Ile Asp Glu
 820 825 830

Thr Ile Lys Asn Asp Leu Leu Asn Lys Leu Lys Glu Asn Pro Thr Glu
 835 840 845
 Gln Glu Trp Lys Leu Met Leu Gln Asn Tyr Ile His Pro Lys Lys Gln
 850 855 860
 Thr Lys Val Lys Lys Val Met Ile Ser Val Ser Glu Gly Glu Ile Thr
 865 870 875 880

Lys Asp Ser Asn Asn Arg Glu Arg Met Gly Glu Phe Val Asp Phe Gly
 885 890 895

Thr Lys Gly Thr Gln His Gln Phe Lys His Ser Lys Arg His Lys Gly
 900 905 910

Gln Ile Leu Tyr Phe Asn Glu Lys Gly Val Val Glu Val Met Pro Val
 915 920 925

Tyr Ser Asn Ile Lys Thr Thr Asp Val Lys Asp Lys Leu Gln Asn Met
 930 935 940

Gly Cys Lys Leu Tyr Asn Lys Gly Gln Met Phe Tyr Ser Gly Cys Leu
 945 950 955 960

Val Asp Ile Pro Lys Pro Phe Lys Ala Gly Ser Lys Glu Tyr Pro Ala
 965 970 975

Gly Arg Tyr Gln Ile Lys Thr Ile Arg Ser Asp Lys Val Ala Glu Leu
 980 985 990

Glu Asp Ala Cys Gly Asn Lys Ile Ser Thr Asn Val Lys Tyr Leu Val
 995 1000 1005

Pro Ala Glu Phe Lys Lys Val Glu Ser Lys
 1010 1015

<210> 2

<211> 1031

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_1-5 chimera

<400> 2

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45
 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110
 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140
 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val

275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr

 290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro

 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys

 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg

 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu

 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525

Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His

 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val

 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn

 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Met Cys Ile Cys Phe Ala Pro Thr Ser Asn

 740 745 750
 Ala Lys Lys Ala Leu Ser Arg Lys Asn Ile Leu Pro Glu Glu Ile Ala
 755 760 765
 Lys Asn Pro Glu Ser Asp Asp Ala Arg Asn Phe Phe Ala Lys Tyr Leu

770 775 780
 Ala Glu Val Val Pro Thr Lys Val Ala Ile Lys Lys Pro Glu Leu Glu
 785 790 795 800
 Gln Thr Ile Tyr Ser Lys Arg Val Ile Gly Gly Arg Gln Thr Ile Val

 805 810 815
 Lys Lys Cys Asn Val Arg Asp Leu Ala Tyr Lys Gly Gln Asn Pro Lys
 820 825 830
 Tyr Asp Phe Asp Thr Leu Thr Lys Arg Ile Lys Asp Ile Ile Asn Pro
 835 840 845
 Val Ser Lys Arg Val Ile Glu Asp Phe Ala Lys Thr Glu Pro Thr Glu
 850 855 860
 Ala Glu Trp Glu Asp Trp Cys Lys Tyr Glu Ala Ala Ile Pro Ser Lys

 865 870 875 880
 Asn Gly Ser Pro Thr Arg Leu Leu Arg Val Leu Cys Lys Thr Lys Asp
 885 890 895
 Asp Ala Glu Arg Phe Lys Asp Leu Ser Lys Asp Gly Cys Gly Ala Tyr
 900 905 910
 Arg Lys Ser Lys Ser His Lys Gly Gln Phe Ile Trp Lys Asp Asn Lys
 915 920 925
 Gly Asn Tyr Leu Val Ala Pro Val Tyr Ile Tyr Ser Ser Lys Gln Lys

 930 935 940
 Val Tyr Ala Glu Leu Lys Asn Asn Pro Lys Cys Met Gly Ile Cys Asp
 945 950 955 960
 Phe Phe Lys Thr Gly Cys Leu Val Lys Ile Ser Asn Glu Val Val Asp
 965 970 975
 Glu Lys Lys Asn Arg Leu Trp Leu Lys Ala Gly Phe Tyr Asn Leu Asn
 980 985 990
 Ser Ile Ala Lys Glu Lys Arg Val Tyr Leu Thr Asp Val Asn Gly Gln

 995 1000 1005
 Glu His Lys Lys Ile Pro Leu Gln His Leu Met Asn Ala Gly Met
 1010 1015 1020

Lys Arg Val Glu Thr Asn Thr Ile

1025

1030

<210> 3

<211> 1029

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_1-6 chimera

<400> 3

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp

1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro

20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp

35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile

50 55 60

Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg

65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly

85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala

100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg

115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp

130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe

145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro

	165	170	175
Ala Asn Pro Thr	Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu		
	180	185	190
Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val			
	195	200	205
Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu			
	210	215	220
Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr			
225	230	235	240
Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro			
	245	250	255
Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr			
	260	265	270
Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val			
	275	280	285
Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr			
	290	295	300
Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp			
305	310	315	320
Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro			
	325	330	335
Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr			
	340	345	350
Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys			
	355	360	365
Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu			
	370	375	380
Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu			
385	390	395	400
Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro			
	405	410	415

Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430

Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445

Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460

Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480

Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495

Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510

Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525

Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540

Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560

Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575

Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590

Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605

Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620

Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640

Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655

Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr

660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700

 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Met Cys Leu Cys Phe Ala Pro Thr Gly Val
 740 745 750
 Asp Ser Arg Arg Ala Lys Leu Gly Glu Ile Leu Pro Glu Lys Leu Arg
 755 760 765

 Ser Glu Lys Ala Ala Arg Glu Phe Phe Lys Ser Tyr Leu Asp Lys Ile
 770 775 780
 Met Pro Val Asp Val Ala Pro Lys Lys Pro Arg Leu Glu Asp Gly Ile
 785 790 795 800
 Tyr Ser Lys Arg Ile Ile Gly Gly Lys Ala Cys Met Val Lys Arg Asn
 805 810 815
 Asn Leu Val Asp Leu Ala Tyr Lys Ser Gly Leu Lys Pro Val Phe Asp
 820 825 830

 Ile Pro Thr Leu Ile Lys Leu Val Asp Lys Lys Glu Lys Gly Ile Ile
 835 840 845
 Asn Pro Gln Ile Arg Lys Met Ile Gly Glu Phe Ala Ala Thr Asn Pro
 850 855 860
 Asp Glu Ser Ala Trp Arg Lys Trp Cys Glu Glu Val Arg Leu Pro Ser
 865 870 875 880
 Lys Ser Gly Leu Gly Ala Arg Val Leu Arg Val Leu Val Tyr Tyr Gly
 885 890 895

 Glu Ala Asp Glu Tyr Lys Asp Leu Ser Lys Asp Gly Cys Gly Ala Tyr
 900 905 910

Arg Lys Gly Asp Gly His Lys Gly Gln Val Val Trp Glu Ser Val Asp
 915 920 925
 Gly Lys Tyr Tyr Val Glu Pro Val Tyr Val His Ala Ser Lys Ala Gly
 930 935 940
 Val Met Ala Ala Leu Asn Ala Asn Pro Lys Lys Lys Arg Ile Cys Gly
 945 950 955 960

Met Phe Asn Ser His Cys Thr Val Asp Val Gly Asp Val Tyr Asn Asp
 965 970 975
 Arg Gly Asp Phe Ile Leu Pro Ala Gly Arg Tyr Met Val Asn Thr Ile
 980 985 990
 Leu Thr Thr Gly Arg Cys Val Leu Thr Asn Ala Asp Gly Glu Lys Arg
 995 1000 1005
 Asn Pro Ile Asn Ile Asn Tyr Leu Met Arg Ala Gly Met Arg Arg
 1010 1015 1020

Val Glu Leu Ser Glu Leu
 1025

<210> 4

<211> 1029

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_1-7 chimera

<400> 4

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile

50	55	60	
Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg			
65	70	75	80
Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly			
	85	90	95
Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala			
	100	105	110
Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg			
	115	120	125
Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp			
	130	135	140
Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe			
145	150	155	160
Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro			
	165	170	175
Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu			
	180	185	190
Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val			
	195	200	205
Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu			
	210	215	220
Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr			
225	230	235	240
Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro			
	245	250	255
Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr			
	260	265	270
Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val			
	275	280	285
Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr			
	290	295	300

Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350

 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415

 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480

 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540

 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His

545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605

 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670

 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735

 His His Ala Val Asp Ala Met Cys Leu Cys Phe Ala Pro Thr Gly Val
 740 745 750
 Asn Ser Lys Arg Ala Arg Val Asp Met Leu Leu Pro Pro Lys Ile Arg
 755 760 765
 Ser Glu Lys Glu Ala Glu Leu Phe Phe Arg Lys Tyr Leu Asp Lys Leu
 770 775 780
 Ile Pro Val Asp Val Ala Pro Lys Lys Pro Lys Leu Glu Asp Gly Ile
 785 790 795 800

Tyr Ser Met Arg Thr Val Gly Gly Lys Lys Ile Met Ala Arg Arg Val
 805 810 815
 Asn Leu Val Asp Leu Ala Tyr Lys Ser Gly Leu Lys Pro Val Tyr Asp
 820 825 830
 Val Ser Val Leu Ile Lys Leu Leu Asp Lys Lys Glu Arg Gly Ile Ile
 835 840 845
 Asn Pro Gln Ile Arg Lys Leu Val Ala Asp Phe Ala Arg Thr Asn Pro
 850 855 860

Ser Glu Asp Glu Trp Lys Lys Trp Cys Gly Glu Cys Arg Leu Pro Ser
 865 870 875 880
 Lys Asn Gly Leu Gly Thr Arg Val Ile Arg Val Leu Leu Asn Tyr Gly
 885 890 895
 Glu Pro Ala Glu Tyr Lys Asp Leu Ser Lys Asp Gly Arg Gly Ala Phe
 900 905 910
 Arg Arg Gly Asp Gly His Lys Gly Gln Ile Val Trp Glu Ser Thr Asp
 915 920 925

Gly Lys Tyr Cys Val Leu Pro Ile Tyr Val His Ala Ser Lys Ala Lys
 930 935 940
 Leu Leu Ala Glu Leu Cys Ala Asn Pro Lys Lys Lys Arg Ile Cys Gly
 945 950 955 960
 Ile Phe Thr Ser His Cys Met Val Lys Val Gly Asn Thr Tyr Asn Asn
 965 970 975
 Lys Gly Glu Leu Leu Leu Pro Glu Gly Val Tyr Met Leu Asn Thr Ile
 980 985 990

Arg Thr Asp Gly Trp Ile Gln Leu Thr Ser Ala Asn Gly Asp Lys Ser
 995 1000 1005
 Lys Pro Ile Asn Ile Asn Tyr Leu Met Lys Ala Gly Met Lys Lys
 1010 1015 1020
 Val Pro Val Lys Asp Leu
 1025

<210> 5

<211> 1068

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220

><223> Description: MG3-6_2-4 chimera

<400> 5

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp

1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro

20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp

35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile

50 55 60

Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg

65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly

85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala

100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg

115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp

130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe

145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro

165 170 175

Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu

180 185 190

Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His

435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His

 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met

 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys

 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685

Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Leu Thr Leu Gly Leu Ala Thr Ala Leu Val
 740 745 750
 Pro Gly Ile Glu Arg Lys Glu Leu Arg Arg Ala Leu Ser Leu Arg Gln
 755 760 765
 Ala Lys Gly Asp Asp Ala Thr Leu Leu Arg Ser Asp Pro Lys Leu Gly
 770 775 780
 Glu Ala Leu Arg Trp Arg Thr Glu Asp Arg Phe Glu Ala Ala Pro Leu
 785 790 795 800
 Ser Gly Lys Leu Glu Ser Ala Val Arg Arg Ala Leu Ala Glu Gly Arg
 805 810 815
 Val Val Gln His Val Pro Ala Lys Arg Gln Gly Met Lys Val Asp Ser
 820 825 830
 Asn Phe Phe Gly Phe Val Glu Phe Asp Glu Thr Gly Arg Leu Arg Val
 835 840 845
 Arg Gln Lys Met Arg Ser Pro Thr Thr Arg Arg Arg Glu Ile Lys Thr
 850 855 860
 Thr Val Lys Asn Gly Lys Asn Leu His Thr Leu Ser His Leu Ser Leu
 865 870 875 880
 Asp Pro Lys Ser Trp Leu Gly Ala Pro Asp His Pro Leu Arg Arg Lys
 885 890 895
 Gln Leu Glu His Gly Leu Arg Thr Glu Asn Asp Leu Ala Asn Pro Lys
 900 905 910
 Leu Gly Asn Ile Arg Gly Met Leu Pro Ile Arg Glu Asn Trp Gly Ile
 915 920 925
 Ala Leu Ile Thr Lys Asp Gly Ser Pro Arg Leu Asp Val Ile Pro Tyr

930 935 940
 Ile Asn Val His Gln Trp Leu Glu Val Leu Ala Leu Glu Asn Gly Gly
 945 950 955 960
 Gly Ser Pro Val Val Leu Arg Lys Gly His Leu Val Gly Phe Asp Ala
 965 970 975
 Glu Lys Cys Pro Glu Glu Tyr Cys Gly Ala Trp Met Leu Leu Gly Val
 980 985 990
 Lys Asp Gly Arg Ser Gly Thr Thr Leu Glu Leu Ile Arg Pro Trp Met
 995 1000 1005
 Val Ala Pro Arg Lys Gly Gly Thr Lys Glu Ser Ser Ala Lys Gln

1010 1015 1020
 Ala Ile Lys Pro Ala Ser Gly Tyr Ser Glu Lys Glu Gly Lys Ala
 1025 1030 1035
 Ser Gly Val Phe Leu Gln Arg Ser Ala Asp Val Phe Leu Lys Leu
 1040 1045 1050
 Gly Leu Arg Pro Leu Asp His Asp Leu Thr Gly Ile Ala Ala Phe
 1055 1060 1065

<210> 6

<211> 1006

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_2-7 chimera

<400> 6

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp

35 40 45
 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110

 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140
 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175

 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240

 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285

Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300

Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320

Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335

Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350

Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365

Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380

Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400

Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415

Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430

Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445

Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460

Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480

Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495

Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510

Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525

Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu

530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560

 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620

 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685

 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Val Thr Gln Gly Leu Ala Leu Leu Leu Phe
 740 745 750

 Ala Pro Glu Asp Trp Pro Leu Leu Val Lys Arg Asn Leu Pro Asp Ser
 755 760 765
 Glu Gln Arg His Leu Lys Ala Arg Tyr Pro Phe Leu Asp Phe Ser Ala
 770 775 780

Asp Lys His Ile Ser Ile Gln Asp Leu Pro Glu Asp Thr Leu His Thr
 785 790 795 800
 Ile Ser Glu Arg Leu Ala Glu Cys Arg Val Val Arg His Ile Pro Ala
 805 810 815

 Lys Met His Gly Ile Ile Val Asp Gln Thr Thr Trp Gly Thr Val Ala
 820 825 830
 Ala Gly Ala Ile Thr Thr Leu Arg Gln Lys Thr Thr Glu Lys Asn Ala
 835 840 845
 Arg Cys Asp Glu Asn Gly Lys Arg Phe Ile Lys Thr Thr Glu Lys Lys
 850 855 860
 Arg Ser Leu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Ala Pro Asp Gly Lys Leu Ala
 865 870 875 880

 Lys Ile Lys Gly Ala Ile Leu Val Thr Glu Asn Trp Gly Cys Ala Leu
 885 890 895
 Asp Pro Ser Pro Thr Val Ile Pro His Phe Lys Val Tyr Pro Gln Leu
 900 905 910
 Arg Ala Leu Arg Glu Lys Asn Gly Gly Arg Pro Ile Arg Ile Leu Arg
 915 920 925
 Lys Gly Ser Leu Ile Gln Val Lys Ala Gly Thr Tyr Gln Gly Ile Trp
 930 935 940

 Ser Val Ala Ser Ile Lys Asp Asn Ala Asp Gly Ile Cys Leu Asp Ile
 945 950 955 960
 Asn Ala Ala Asp Lys Val Lys Leu Glu Asn Arg Ser Asp Asp Ser Lys
 965 970 975
 Ile Asn Val Arg Leu Asp Ser Leu Arg Lys Ser Gly Leu Lys Ile Leu
 980 985 990
 Lys Pro Lys Leu Thr Gly Ala Cys Pro Thr Thr Ser Ser Pro
 995 1000 1005

<210> 7

<211> 1109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_3-1 chimera

<400> 7

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45
 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110
 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140
 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205

Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
210 215 220
Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
225 230 235 240
Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
245 250 255
Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
260 265 270
Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
275 280 285
Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
290 295 300
Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
305 310 315 320
Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
325 330 335
Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
340 345 350
Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
355 360 365
Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
370 375 380
Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
385 390 395 400
Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
405 410 415
Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
420 425 430
Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
435 440 445
Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val

450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu

 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His

 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val

 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn

 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700

Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Ala Val Leu Thr Leu Gln Ser Pro Ala Ile
 740 745 750
 Tyr Arg Val Leu Leu Thr Arg Val Asn Leu Lys His Glu His Glu Val
 755 760 765
 Thr Gly Glu Ala Pro Glu Trp Arg Asp Tyr Glu Gly Ala Asp Gln Ala
 770 775 780
 Glu Lys Val Leu Tyr Arg Arg Trp Gln Lys Asn Ile Ala Thr Leu Ala
 785 790 795 800
 Glu Leu Met Arg Gln Glu Ile Glu Asn Asn Arg Val Pro Val Thr Arg
 805 810 815
 Pro Ile Arg Leu Arg Lys Ser Arg Gly Ala Val His Asp Ala Thr Val
 820 825 830
 Met Lys Ala Leu Glu Arg Asp Leu Trp Gly Glu Trp Asp Ala Gln Ala
 835 840 845
 Ile Asp Arg Leu Val Asp Pro Glu Leu His Leu Ala Leu Arg Lys Leu
 850 855 860
 Phe Thr Ser Thr Lys Ser Lys Lys Ile Asp Val Asp Ala Thr Ser Gln
 865 870 875 880
 Gly Leu Pro Glu Arg Tyr Leu Ala Asn Gln Thr Val Gln Leu Phe Asp
 885 890 895
 Ala Asp Ala Pro Ser Val Met Ser Pro Arg Gly Ile Leu Arg Ile Gly
 900 905 910
 Ala Gly Thr His His Ala Arg Leu Leu Thr Trp Asp Asp Pro Lys Lys
 915 920 925
 Gly Pro Gln Leu Gly Ile Gln Arg Val Phe Ala Ala Glu Phe Gly Glu
 930 935 940
 Ile Leu Lys Asp Ala Ser Ser Asn Asp Leu Phe Glu Ala Pro Ile Pro

945 950 955 960
Phe His Thr Met Ser His Arg Asp Leu Gln Pro Lys Val Arg Ala Ala
 965 970 975
Val Glu Gln Gly Leu Thr Arg Gln Ile Gly Trp Ile Thr Gln Gly Asp
 980 985 990
Glu Leu Glu Ile Asp Pro Ala Asp Phe Val Gly Glu Ala Asn Ala Phe

 995 1000 1005
Gly Asn Phe Leu Arg Glu Phe Pro Glu Arg Ser Trp Ser Ile Ala
 1010 1015 1020
Gly Leu Lys Lys Ser Asn Thr Ile Val Ile Arg Pro Leu Leu Leu
 1025 1030 1035
Ser Gln Glu Gly Val Thr Ala Ala Ile Ser Pro His Ala Ala Lys
 1040 1045 1050
Ile Val Glu Asn Gly Ile Glu Leu Ser Asn Ser Thr Leu Phe Thr

 1055 1060 1065
Ala Pro Gly Thr Gly Ile Ile Arg Arg Thr Gly Leu Gly Arg Pro
 1070 1075 1080
Arg Trp Asp Ser Gly Pro Ala His Leu Pro Glu Ser Phe Asn Val
 1085 1090 1095
His Ala Arg Met Thr Gln Gln Ser Ala Arg Asp
 1100 1105

<210> 8

<211> 1122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_3-2 chimera

<400> 8

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45

 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110

 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140
 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175

 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240

 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr

	260	265	270
Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val			
	275	280	285
Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr			
	290	295	300
Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp			
305	310	315	320
Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro			
	325	330	335
Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr			
	340	345	350
Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys			
	355	360	365
Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu			
	370	375	380
Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu			
385	390	395	400
Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro			
	405	410	415
Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg			
	420	425	430
Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His			
	435	440	445
Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val			
	450	455	460
Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly			
465	470	475	480
Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu			
	485	490	495
Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His			
	500	505	510

Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560

 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620

 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685

 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Ala Val Leu Thr Leu Leu Asp Pro Ser Val
 740 745 750

 Ala Lys Thr Leu Ala Met Arg Leu Asp Leu Lys Arg Glu Gln Gln Asp

755 760 765
 Ser Gly Arg Asp Thr Arg Trp Lys Glu Phe Lys Gly Leu Thr Pro Ala
 770 775 780
 Ser Gln Glu Arg Phe Ile Lys Trp Cys Gln Ala Ser Glu Cys Leu Ala
 785 790 795 800
 Asp Met Leu Arg Gln Gln Ile Glu Ala Asp Arg Val Pro Val Val Val
 805 810 815

 Pro Leu Arg Ile Ser Pro Ser Asn Gly Ala Val His Asp Asp Ser Val
 820 825 830
 Arg Pro Leu Thr Arg Gln Lys Ile Asp Ser Thr Trp Asp Arg Lys Ser
 835 840 845
 Ile Asn Arg Ile Val Asp Pro Glu Ile His Val Ala Met Arg Arg Leu
 850 855 860
 Leu Asn Asn Gly Thr Ser Leu Pro Glu Asp Lys Asn Arg Val Leu Asp
 865 870 875 880

 Leu Pro Asp Gly Asn Glu Leu Gly Pro His Asp Glu Val Glu Leu Phe
 885 890 895
 Ser Thr Ser Ala Ala Ser Ile Lys Leu Arg Arg Gly Gly Ser Ala Glu
 900 905 910
 Ile Gly Gly Ser Ile His His Ala Arg Val Tyr Ala Trp Met Gly Ala
 915 920 925
 Lys Gly Gln Leu Glu Tyr Gly Met Met Arg Val Phe Gly Ala Glu Phe
 930 935 940

 Pro Thr Leu Thr Lys Leu Ser Gly Ser Lys Asp Ile Leu Arg Met Pro
 945 950 955 960
 Ile His Ala Gly Ser Met Ser Tyr Arg Asp Met Gln Asp Arg Val Arg
 965 970 975
 Lys Pro Ile Glu Ser Asp Ile Ala Val Glu Leu Gly Trp Ile Thr Gln
 980 985 990
 Gly Asp Glu Leu Glu Ile Leu Pro Glu Ala His Leu Glu Thr Ala Gly
 995 1000 1005

Gly Leu Gly Asp Phe Leu Lys Ser Phe Pro Glu Thr Gln Trp Thr
 1010 1015 1020
 Ile Asp Gly Phe Asn Asp Pro Ser Arg Leu Arg Val Arg Pro Arg
 1025 1030 1035
 Leu Met Ser Leu Glu Gly Arg Asp Thr Ile Asp Ala Met Gly His
 1040 1045 1050
 Leu Ser Asp Thr Glu Lys Leu Lys Ile Lys Gln Ala Leu Ser Lys
 1055 1060 1065

Gly Leu Met Val Ser Ala Ser Glu Leu Leu Ser His Gly Ala Lys
 1070 1075 1080
 Ile Ile Arg Arg Asp His Leu Gly Arg Pro Arg Trp Arg Gly Asn
 1085 1090 1095
 Ala Arg Pro Val Ser Ile Glu Leu Glu Gln Val Ala Asn Gln Leu
 1100 1105 1110
 Val Asn His Arg Ser Val Asp Gly Gln
 1115 1120

<210> 9

<211> 1125

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_3-3 chimera

<400> 9

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45
 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile

50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala

 100 105 110
 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140
 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro

 165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr

 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr

 290 295 300

Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His

545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val

 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn

 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Ala Val Met Thr Leu Leu Asn Pro Ser Val

 740 745 750
 Ala Val Thr Leu Glu Gln Arg Arg Met Leu Lys Gln Glu Asn Asp Tyr
 755 760 765
 Ser Ser Pro Arg Gly Gln His Asp Asn Gly Trp Arg Asp Phe Ile Gly
 770 775 780
 Arg Gly Glu Ala Ser Gln Ser Lys Phe Leu His Trp Lys Lys Thr Ala
 785 790 795 800

Val Val Leu Ala Asp Leu Ile Ser Glu Ala Ile Glu Gln Asp Thr Ile
 805 810 815
 Pro Val Val Asn Pro Leu Arg Leu Arg Pro Gln Asn Gly Ser Val His
 820 825 830
 Lys Asp Thr Val Glu Ala Val Leu Glu Arg Thr Val Gly Asp Ser Trp
 835 840 845
 Thr Asp Lys Gln Val Ser Arg Ile Val Asp Pro Asn Thr Tyr Ile Ala
 850 855 860
 Phe Leu Ser Leu Leu Gly Arg Lys Lys Glu Leu Asp Ala Asp His Gln
 865 870 875 880
 Arg Leu Val Ser Val Ser Ala Gly Val Lys Leu Leu Ala Asp Glu Arg
 885 890 895
 Val Gln Ile Phe Pro Glu Glu Ala Ala Ser Ile Leu Thr Pro Arg Gly
 900 905 910
 Val Val Lys Ile Gly Asp Ser Ile His His Ala Arg Leu Tyr Gly Trp
 915 920 925
 Lys Asn Gln Arg Gly Asp Ile Gln Val Gly Met Leu Arg Val Phe Gly
 930 935 940
 Ala Glu Phe Pro Trp Phe Met Arg Glu Ser Gly Val Lys Asp Ile Leu
 945 950 955 960
 Arg Val Pro Ile Pro Gln Gly Ser Gln Ser Tyr Arg Asp Leu Ala Ala
 965 970 975
 Thr Thr Arg Lys Phe Ile Glu Asn Gly Gln Ala Thr Glu Phe Gly Trp
 980 985 990
 Ile Thr Gln Asn Asp Glu Ile Glu Ile Ser Ala Glu Glu Tyr Leu Ala
 995 1000 1005
 Thr Asp Lys Gly Asp Ile Leu Ser Asp Phe Leu Gly Ile Leu Pro
 1010 1015 1020
 Glu Ile Arg Trp Lys Val Thr Gly Ile Glu Asp Asn Arg Arg Ile
 1025 1030 1035
 Arg Leu Arg Pro Leu Leu Leu Ser Ser Glu Ala Ile Pro Asn Met

1040 1045 1050
 Leu Asn Gly Arg Leu Leu Thr Gln Glu Glu His Asp Leu Ile Ala

1055 1060 1065
 Leu Val Ile Asn Lys Gly Val Arg Val Val Val Ser Thr Phe Leu

1070 1075 1080
 Ala Leu Pro Ser Thr Lys Ile Ile Arg Arg Asn Asn Leu Gly Ile

1085 1090 1095
 Pro Arg Trp Arg Gly Asn Gly His Leu Pro Thr Ser Leu Asp Ile

1100 1105 1110
 Gln Arg Ala Ala Thr Gln Ala Leu Glu Gly Arg Asp

1115 1120 1125

<210> 10
 <211> 1134
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <220><223> Category: MG3 chimeric effectors
 <220><223> Description: MG3-6_3-4 chimera

<400> 10
 Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45
 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly

85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175

Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190

Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205

Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220

Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240

Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255

Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270

Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285

Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300

Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320

Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335

Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350

 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415

 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480

 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540

 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly

580	585	590
Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys		
595	600	605
Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val		
610	615	620
Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys		
625	630	635
640		
Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn		
645	650	655
Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr		
660	665	670
Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn		
675	680	685
Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr		
690	695	700
Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu		
705	710	715
720		
Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg		
725	730	735
His His Ala Val Asp Ala Ala Val Met Thr Leu Leu Asn Arg Ser Val		
740	745	750
Ala Leu Thr Leu Glu Gln Arg Ser Gln Leu Arg Arg Ala Phe Tyr Glu		
755	760	765
Leu Glu Leu Asp Lys Leu Asp Arg Asp Gln Leu Lys Pro Gly Glu Asp		
770	775	780
Trp Arg Asn Phe Thr Gly Leu Tyr Glu Ala Ser Gln Asn Lys Phe Ser		
785	790	795
800		
Glu Trp Lys Lys Ala Ala Thr Val Leu Gly Asp Leu Leu Ala Glu Ala		
805	810	815
Ile Glu Asp Asp Ala Ile Ala Val Val Ser Pro Leu Arg Leu Arg Pro		
820	825	830

Gln Asn Gly Ser Val His Asp Asp Thr Ile Asn Ala Val Lys Lys Leu
 835 840 845

Thr Leu Gly Ser Ala Trp Pro Ala Asp Ala Val Lys Arg Ile Val Asp
 850 855 860

Pro Glu Ile Tyr Leu Ala Met Lys Asp Val Leu Gly Lys Leu Lys Glu
 865 870 875 880

Leu Pro Glu Asp Ser Ala Arg Ser Leu Glu Leu Ser Asp Gly Arg Tyr
 885 890 895

Ile Glu Ala Asp Asp Glu Val Leu Phe Phe Pro Lys Lys Ala Ala Ser
 900 905 910

Ile Leu Thr Pro Arg Gly Ala Ala Glu Ile Gly Asn Ser Ile His His
 915 920 925

Ala Arg Leu Tyr Ser Trp Leu Thr Lys Lys Gly Glu Leu Lys Phe Gly
 930 935 940

Met Leu Arg Val Tyr Gly Ala Glu Phe Pro Trp Leu Met Arg Glu Ser
 945 950 955 960

Gly Ser Arg Asp Val Leu His Met Pro Ile His Pro Gly Ser Gln Ser
 965 970 975

Phe Arg Gly Met Gln Asp Gly Val Arg Lys Ala Val Glu Ser Gly Glu
 980 985 990

Ala Val Glu Phe Gly Trp Ile Thr Gln Asp Asp Glu Leu Glu Phe Asp
 995 1000 1005

Pro Glu Asp Tyr Ile Ala His Gly Gly Asp Asp Glu Leu Asn Arg
 1010 1015 1020

Leu Leu Arg Val Met Pro Glu Arg Arg Trp Arg Val Asp Gly Phe
 1025 1030 1035

Tyr Asn Ala Gly Thr Leu Arg Ile Arg Pro Ala Leu Leu Ser Ala
 1040 1045 1050

Glu Gln Leu Pro Ser Glu Leu Gln Lys Lys Val Ala Asp Lys Thr
 1055 1060 1065

Leu Ser Asp Val Glu Leu Ile Leu Leu Arg Ala Val Gln Arg Gly

1070 1075 1080
 Leu Phe Val Ala Ile Ser Ser Phe Leu Pro Leu Glu Ser Leu Lys
 1085 1090 1095
 Val Ile Arg Arg Asn Asn Leu Gly Phe Pro Arg Trp Arg Gly Asn
 1100 1105 1110

Gly Asn Leu Pro Thr Ser Phe Glu Val Arg Ser Ser Ala Leu Arg
 1115 1120 1125

Ala Leu Gly Val Glu Gly
 1130

<210> 11

<211> 1123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_3-7 chimera

<400> 11

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60

Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140

 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205

 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270

 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335

 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys

355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400

 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460

 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525

 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590

 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605

Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655

 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720

 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Ala Val Leu Thr Leu Leu Asn Arg Ser Val
 740 745 750
 Ala Val Thr Leu Glu Gln Arg Arg Leu Ile Lys Gln Gln Arg Glu Tyr
 755 760 765
 Ser Leu Glu Lys Ser Arg Arg Glu Arg Asp Asn Val Trp Arg Asp Phe
 770 775 780

 Met Gly Leu Gly Pro Ala Ala Gln Glu Lys Phe Ala Lys Trp Lys Lys
 785 790 795 800
 Thr Ala Tyr Val Leu Ala Asp Ile Ile Lys Glu Ala Ile Ser Asn Asp
 805 810 815
 Ala Ile Pro Val Val Ser Pro Leu Arg Leu Arg Pro Gln Asn Gly Ser
 820 825 830
 Val His Leu Asp Thr Val Asp Ala Val Leu Glu Arg Thr Ile Gly Asp
 835 840 845

 Ala Trp Thr Val Asp Gln Val His Arg Ile Val Asn Pro Gln Ile Tyr

850 855 860
 Leu Ala Phe Ala Gly Tyr Leu Gly Asn Gln Lys Ala Leu Asp Pro Asp
 865 870 875 880
 Ser Ser Arg Val Leu Ala Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu Thr Ala Glu
 885 890 895
 Asp Val Ile Tyr Val Phe Pro Glu Lys Ala Ala Ser Ile Leu Thr Pro
 900 905 910

 Arg Gly Val Val Lys Ile Gly Glu Ser Val His His Val Arg Leu Tyr
 915 920 925
 Ala Trp Lys Asn Arg Lys Gly Lys Ala Glu Val Gly Met Leu Arg Val
 930 935 940
 Phe Gly Ala Glu Phe Pro Trp Leu Met Arg Glu Ser Gly Val Lys Asp
 945 950 955 960
 Val Leu Arg Val Pro Ile His Thr Gly Ser Gln Ser Tyr Arg Asp Leu
 965 970 975

 Ser Phe Thr Val Arg Lys Asn Ile Glu Lys Gly Glu Ala Ala Glu Ile
 980 985 990
 Gly Trp Leu Thr Gln Asn Glu Glu Leu Glu Phe Asn Pro Glu Ser Tyr
 995 1000 1005
 Leu Gln Glu Gly Gly Lys Asp Lys Leu Ala Lys Phe Leu Ala Phe
 1010 1015 1020
 Leu Pro Glu Thr Arg Trp Arg Val Asp Gly Phe Pro Met Pro Asp
 1025 1030 1035

 Lys Leu Arg Ile Arg Pro Ala Leu Leu Ser Arg Glu Glu Ile Pro
 1040 1045 1050
 Glu Gly Val Phe Arg Thr Glu Glu Gln Ser Leu Leu Glu Glu Ala
 1055 1060 1065
 Leu Thr Lys Gly Leu Ile Ile Ala Thr Lys Gly Leu Leu Ser Leu
 1070 1075 1080
 Pro Asp Val Lys Val Leu Arg Arg Asn Asn Leu Gly Ile Pro Arg
 1085 1090 1095

Trp Arg Gly Gly Ser Tyr Arg Pro Val Ser Leu Asp Ile Gln Arg
 1100 1105 1110

Ala Ala Leu Ala Ala Leu Asp Glu Gln Glu
 1115 1120

<210> 12

<211> 1134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_3-8 chimera

<400> 12

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp

1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro

20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp

35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile

50 55 60

Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg

65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly

85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala

100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg

115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp

130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe

145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val

 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr

 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro

 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu

 385 390 395 400

Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn

645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu

 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Ala Val Met Thr Leu Leu Asn Arg Ser Val
 740 745 750
 Ala Leu Thr Leu Glu Gln Arg Ser Gln Leu Arg Arg Ala Phe Tyr Glu
 755 760 765
 Gln Gly Leu Asp Lys Leu Asp Arg Asp Gln Leu Lys Pro Glu Glu Asp

 770 775 780
 Trp Arg Asn Phe Ile Gly Leu Ser Leu Ala Ser Gln Glu Lys Phe Leu
 785 790 795 800
 Glu Trp Lys Lys Val Thr Thr Val Leu Gly Asp Leu Leu Ala Glu Ala
 805 810 815
 Ile Glu Asp Asp Ser Ile Ala Val Val Ser Pro Leu Arg Leu Arg Pro
 820 825 830
 Gln Asn Gly Arg Val His Lys Asp Thr Ile Ala Ala Val Lys Lys Gln

 835 840 845
 Thr Leu Gly Ser Ala Trp Ser Ala Asp Ala Val Lys Arg Ile Val Asp
 850 855 860
 Pro Glu Ile Tyr Leu Ala Met Lys Asp Ala Leu Gly Lys Ser Lys Val
 865 870 875 880
 Leu Pro Glu Asp Ser Ala Arg Thr Leu Glu Leu Ser Asp Gly Arg Tyr
 885 890 895

Leu Glu Ala Asp Asp Glu Val Leu Phe Phe Pro Lys Asn Ala Ala Ser
 900 905 910
 Ile Leu Thr Pro Arg Gly Val Ala Glu Ile Gly Gly Ser Ile His His
 915 920 925
 Ala Arg Leu Tyr Ser Trp Leu Thr Lys Lys Gly Glu Leu Lys Ile Gly
 930 935 940
 Met Leu Arg Val Tyr Gly Ala Glu Phe Pro Trp Leu Met Arg Glu Ser
 945 950 955 960
 Gly Ser His Asp Val Leu Arg Met Pro Ile His Pro Gly Ser Gln Ser
 965 970 975
 Phe Arg Asp Met Gln Asp Thr Thr Arg Lys Ala Val Glu Ser Ser Glu
 980 985 990
 Ala Val Glu Phe Ala Trp Ile Thr Gln Asn Asp Glu Leu Glu Phe Glu
 995 1000 1005
 Pro Glu Asp Tyr Ile Ala His Gly Gly Lys Asp Glu Leu Arg Gln
 1010 1015 1020
 Phe Leu Glu Phe Met Pro Glu Cys Arg Trp Arg Val Asp Gly Phe
 1025 1030 1035
 Lys Lys Asn Tyr Gln Ile Arg Ile Arg Pro Ala Met Leu Ser Arg
 1040 1045 1050
 Glu Gln Leu Pro Ser Asp Ile Gln Arg Arg Leu Glu Ser Lys Thr
 1055 1060 1065
 Leu Thr Glu Asn Glu Ser Leu Leu Leu Lys Ala Leu Asp Thr Gly
 1070 1075 1080
 Leu Val Val Ala Ile Gly Gly Leu Leu Pro Leu Gly Thr Leu Lys
 1085 1090 1095
 Val Ile Arg Arg Asn Asn Leu Gly Phe Pro Arg Trp Arg Gly Asn
 1100 1105 1110
 Gly Asn Leu Pro Thr Ser Phe Glu Val Arg Ser Ser Ala Leu Arg
 1115 1120 1125
 Ala Leu Gly Val Glu Gly

1130

<210> 13

<211> 1039

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_4-2 chimera

<400> 13

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp

1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro

20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp

35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile

50 55 60

Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg

65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly

85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala

100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg

115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp

130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe

145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro

165 170 175

Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg

420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His

435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val

450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480

Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His

500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525

Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met

565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590

Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val

610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys

625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655

Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670

Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Val Ala Ile Ala Leu Thr Asp Pro Ala Ala
 740 745 750
 Leu Lys Ser Ile Ser Gln Ala Ala Ser Asp Glu Arg Arg Gly Gly Arg
 755 760 765
 Val Ser Phe Gly Ala Val Ala Leu Pro Trp Val Asp Phe Ile Gly Asp
 770 775 780
 Val Gln Ala Ala Ile Glu Ala Ile Asn Val Ser His Arg Pro Ser Arg
 785 790 795 800
 Lys Val Asn Gly Ala Leu His Glu Glu Thr Phe Tyr Gly Pro Arg Gly
 805 810 815
 Met Asp Gly Asp Gly Arg Pro Thr Gly Tyr Val Gln Arg Lys Pro Val
 820 825 830
 Glu Arg Leu Ser Ala Lys Glu Ile Pro Asn Ile Pro Asp Pro Ala Val
 835 840 845
 Arg Glu Ala Val Gln Ala Lys Leu Asp Glu Val Gly Gly Thr Pro Ala
 850 855 860
 Gln Ala Phe Lys Asp Pro Ala Asn His Pro Val Arg Lys Arg Gly Ile
 865 870 875 880
 Pro Val His Lys Val Arg Leu Arg Leu Asn Ile Asn Pro Val Gln Val
 885 890 895
 Gly Ser Gly Ala Thr Glu Arg His Val Leu Thr Gly Ser Asn His His
 900 905 910
 Met Glu Ile Ile Glu Val Arg Asp Ala Lys Gly Gly Lys Lys Trp Thr

915 920 925
 Gly Arg Leu Val His Arg Leu Glu Ala Lys Arg Arg Ala Leu Gly Arg
 930 935 940
 Glu Thr Ile Val Asp Arg Ala Val Gln Ala Gly Arg Gln Phe Gln Phe

 945 950 955 960
 Ser Leu Ser Pro Gly Asp Met Ile Glu Leu Thr Gly Glu Asp Gly Glu
 965 970 975
 Arg Lys Leu His Val Val Arg Ser Ile Ser Glu Gly Arg Ile Glu Tyr
 980 985 990
 Val Asp Ala Arg Asp Ala Arg Lys Lys Ala Asp Ile Arg Ala Ser Gly
 995 1000 1005
 Asp Trp Arg Lys Pro Ala Val Gly Ser Leu Leu Arg Leu His Cys

1010 1015 1020
 Arg Lys Val Val Val Thr Pro Phe Gly Glu Ile Arg Tyr Ala Asn
 1025 1030 1035
 Asp

<210> 14

<211> 1051

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_4-5 chimera

<400> 14

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp

1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg

 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110
 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp

 130 135 140
 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val

 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr

 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr

290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro

 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu

 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val

 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn

 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540

Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Val Val Ile Ala Leu Thr Gly Pro Gly Thr
 740 745 750
 Val Gln Ala Leu Thr Arg Ala Ala Leu Arg Ala Lys Glu Leu Gly Arg
 755 760 765
 Arg Leu Phe Val Pro Leu Asp Pro Pro Trp Ala Asp Arg Asp Ser Phe
 770 775 780
 Leu Arg Asp Val Arg Ala Ser Val Glu Ala Ile Thr Val Ser Tyr Arg

785 790 795 800
 Val Asp Arg Lys Val Ser Gly Gln Leu His Glu Glu Ser Asn Tyr Ser
 805 810 815
 Lys Pro His Met Thr Val Asp Asn Lys Gly Asn Leu Val Glu His Arg
 820 825 830
 His Ile Arg Lys Pro Leu Lys Asp Met Ser Val Glu Glu Val Glu Ala

 835 840 845
 Ile Val Asp Asp Arg Val Arg Lys Leu Val Gln Glu Lys Leu Arg Gln
 850 855 860
 Leu Gly Gln Glu Pro Lys Lys Ala Phe Ala Asp Glu Ala Asn His Pro
 865 870 875 880
 Tyr Phe Thr Thr Ala Asp Gly Arg Leu Val Pro Ile His Lys Ala Arg
 885 890 895
 Ile Arg Lys Thr Val Ala Thr Ile Thr Val Gly Pro Pro Gln Cys Pro

 900 905 910
 Arg His Val Ala Pro Gly Leu Asn His His Ile Glu Ile Leu Ala Val
 915 920 925
 Arg Asp Pro Ala Gly Ala Val Thr His Trp Glu Gly Glu Leu Val Ser
 930 935 940
 Leu Phe Glu Ala Ala Arg Arg Val Lys Ala Gly Glu Pro Val Val Arg
 945 950 955 960
 Arg Asn His Gly Pro Asn Lys Asp Phe Leu Phe Ser Leu Ala Lys Gly

 965 970 975
 Glu Tyr Val Glu Met Glu Leu Gln Pro Gly Lys Arg Gln Leu Phe Arg
 980 985 990
 Val Thr Val Ile Ser Ala Lys Gln Ile Glu Phe Arg Leu His His Asp
 995 1000 1005
 Ala Arg Pro Thr Met Leu Leu Arg Lys Thr Pro Gly Ala Arg Val
 1010 1015 1020
 Ile Arg Ser Pro Gly Ser Leu Phe Lys Ala Lys Ala Arg Lys Val

 1025 1030 1035

Ala Val Asp Pro Leu Gly Asn Val Phe Pro Ala Asn Asp
 1040 1045 1050

<210> 15

<211> 1061

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_6-3 chimera

<400> 15

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60

Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro

165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205

 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270

 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335

 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400

 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415

Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430

Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445

Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460

Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480

Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495

Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510

Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525

Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540

Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560

Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575

Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590

Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605

Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620

Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640

Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655

Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr

660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720

 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Ile Val Val Ala Phe Thr Asn Arg Ser Thr
 740 745 750
 Leu Lys Arg Leu Ser Asp Glu Asn Lys Arg Ile Gly Thr Ala Glu Trp
 755 760 765
 Met Asp Ala Asp Glu Ser Gly Arg Ala Thr Asn Asp Glu Ile Lys Arg
 770 775 780

 Arg Leu Gly Gly Arg Ile Asp Leu Ser Glu Pro Trp Pro Thr Phe Arg
 785 790 795 800
 Asn Asp Val Glu Val Ser Ile Asn Asn Ile Thr Val Ser His Arg Val
 805 810 815
 Asn Arg Lys Val Ser Gly Ala Leu His Glu Glu Thr Tyr Tyr Gly Pro
 820 825 830
 Thr Asp Glu Pro Ala Pro Lys Asn Lys Glu Met Met Val Leu Arg Lys
 835 840 845

 Ser Val His Gln Leu Ser Lys Lys Asp Leu Gly Leu Ile Arg Asp Glu
 850 855 860
 Thr Ile Arg Gln Ile Val Asn Asp Glu Val Gln Lys Arg Met Asp Asn
 865 870 875 880
 Gly Glu Ser Gln Ala Asn Ala Ile Ala Ser Leu Glu Ala Asp Pro Pro
 885 890 895
 Phe Ile Ile Ser Pro Lys Ala Lys Val Pro Ile Arg Lys Val Arg Leu
 900 905 910

Leu Met Lys Lys Asp Pro Gln Ile Met His Tyr Phe Glu Asn Lys Asn
 915 920 925
 Gly Glu Glu Asp Arg Ala Ala Leu Tyr Gly Asn Asn His His Ile Ala
 930 935 940
 Ile Tyr Glu Thr Ser Asp Lys Asn Gly Val Lys Lys Gln Ile Gly Ile
 945 950 955 960
 Val Ile Pro Met Met Glu Ala Ala Arg Arg Val Lys Asp Gly Asp Pro
 965 970 975

Ile Val Met Lys Asp Tyr Arg Pro Asp His Thr Phe Leu Tyr Ser Leu
 980 985 990
 Ala Lys Asn Asp Met Ile Phe Asn His Glu Asp Glu Gln Ile Tyr Arg
 995 1000 1005
 Val Gln Lys Ile Asn Ser Asp Gly Thr Ile Met Phe Arg Gln Asn
 1010 1015 1020
 Asn Val Ala Met Lys Gly Gln Ser Asp Pro Gly Val Tyr Phe Lys
 1025 1030 1035

Ser Gly Ser Arg Leu Gly Ala Ser Lys Ile Lys Ile Ser Pro Ile
 1040 1045 1050
 Gly Glu Ile Phe Pro Ala Asn Asp
 1055 1060

<210> 16

<211> 990

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_14-1 chimera

<400> 16

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp

1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro

20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45
 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg

 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110
 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp

 130 135 140
 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val

 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr

 260 265 270

Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu

 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val

 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn

515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly

 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn

 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu

 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Cys Val Ile Ala Ala Cys Ser Pro Ser Leu
 740 745 750
 Val Ile Lys Thr Ala Arg Ile Asn Gln Glu Thr His Trp Ser Ile Thr
 755 760 765

Arg Gly Met Asn Glu Thr Gln Arg Arg Asp Ala Ile Met Lys Ala Leu

770 775 780

Glu Ser Val Met Pro Trp Glu Thr Phe Ala Asn Glu Val Arg Ala Ala

785 790 795 800

His Asp Phe Val Val Pro Thr Arg Phe Val Pro Arg Lys Gly Lys Gly

805 810 815

Glu Leu Phe Glu Gln Thr Val Tyr Arg Tyr Ala Gly Val Asn Ala Gln

820 825 830

Gly Lys Asp Ile Ala Arg Lys Ala Ser Ser Asp Lys Asp Ile Val Met

835 840 845

Gly Asn Ala Val Val Ser Ala Asp Glu Lys Ser Val Ile Lys Val Ser

850 855 860

Glu Met Leu Cys Leu Arg Leu Trp His Asp Pro Glu Ala Lys Lys Gly

865 870 875 880

Gln Gly Ala Trp Tyr Ala Asp Pro Val Tyr Lys Ala Asp Ile Pro Ala

885 890 895

Leu Lys Asp Gly Thr Tyr Val Pro Arg Ile Ala Lys Ala His Thr Gly

900 905 910

Arg Lys Ala Trp Lys Pro Val Pro Glu Ser Ala Met Ala Lys Pro Pro

915 920 925

Leu Glu Ile Tyr Phe Gly Asp Leu Val Gln Ile Gly Asp Phe Ile Gly

930 935 940

Arg Phe Ser Gly Tyr Asn Ile Asn Asn Ala Asn Trp Ser Phe Thr Asp

945 950 955 960

Arg Leu Thr Arg Leu Asn Leu Ser Cys Pro Thr Val Gly Gln Leu Asn

965 970 975

Asn Asp Leu Ser Pro Val Val Ile Arg Glu Ser Pro Ile Lys

980 985 990

<210> 17

<211> 1096

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_15-1 chimera

<400> 17

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60

Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175

Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190

Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val

195	200	205	
Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu			
210	215	220	
Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr			
225	230	235	240
Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro			
245	250	255	
Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr			
260	265	270	
Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val			
275	280	285	
Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr			
290	295	300	
Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp			
305	310	315	320
Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro			
325	330	335	
Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr			
340	345	350	
Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys			
355	360	365	
Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu			
370	375	380	
Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu			
385	390	395	400
Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro			
405	410	415	
Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg			
420	425	430	
Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His			
435	440	445	

Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460

 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525

 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590

 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655

 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr

690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720

 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Val Ile Ile Ala Cys Ala Thr Gln Gly Ile
 740 745 750
 Val Asn Lys Val Ser Arg Tyr Ser Lys Ser Arg Glu Leu Trp Asp Tyr
 755 760 765
 Glu Val Asp Met Glu Thr Gly Glu Val Leu Gln Lys Lys Asn Lys Asn
 770 775 780

 Thr Lys Asp Val Phe Pro Glu Pro Trp Leu Asn Phe Arg Tyr Glu Leu
 785 790 795 800
 Glu Gln Lys Val Arg Val Arg Pro Leu Asp Ile Pro Glu Thr Ala Asp
 805 810 815
 Ile Thr Glu Met Glu Glu Pro Phe Val Ser His Met Pro Asn Arg Lys
 820 825 830
 Ile His Gly Pro Ala His Lys Glu Thr Ile Arg Ser Gly Arg Leu Lys
 835 840 845

 Glu Glu Gly Tyr Thr Ile Ser Lys Thr Ala Leu Ile Asp Leu Lys Leu
 850 855 860
 Thr Glu Asp Lys Glu Glu Ile Lys Gly Tyr Tyr Asn Lys Glu Ser Asp
 865 870 875 880
 Arg Leu Leu Tyr Glu Ala Leu Lys Lys Gln Leu Gln Arg Tyr Gly Gly
 885 890 895
 Lys Ala Lys Glu Ala Phe Lys Glu Pro Phe His Lys Pro Lys Ala Asp
 900 905 910

 Gly Thr Pro Gly Pro Ile Val Asn Lys Val Lys Ile Met Glu Lys Ser
 915 920 925
 Thr Met Leu Ile Pro Val Asn Gly Gly Lys Gly Leu Ala Ser Asn Gly
 930 935 940

Asn Met Val Arg Ile Asp Val Phe Arg Ala Glu Glu Lys Gly Lys Lys
 945 950 955 960

Lys Tyr Tyr Phe Ile Pro Val Tyr Val Ala Asp Thr Val Lys Glu Glu
 965 970 975

Leu Pro Asn Arg Ala Val Leu Ala His Lys Pro Tyr Glu Ala Trp Lys
 980 985 990

Ile Met Lys Glu Glu Asn Phe Ile Phe Ser Leu Tyr Pro Asn Asp Leu
 995 1000 1005

Ile Phe Val Asp Ala Gly Lys Glu Ile Pro Phe Lys Ala Ala Leu
 1010 1015 1020

Lys Gly Ser Thr Leu Asp Pro Glu Lys Lys Ala Ser Arg Phe Leu
 1025 1030 1035

Met Tyr Tyr Lys Gly Ala Asp Ile Ala Thr Gly Ser Ile Ser Gly
 1040 1045 1050

Val Asn His Asp Glu Thr Tyr Lys Ala Arg Gly Val Gly Ile Gln
 1055 1060 1065

Ser Leu Arg Glu Ile Lys Lys Cys Cys Ile Asp Val Leu Gly Asn
 1070 1075 1080

Ile Ser Phe Ala Ser Lys Glu Lys Arg Gln Thr Phe Arg
 1085 1090 1095

<210>

18

<211> 1110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_16-1 chimera

<400> 18

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro

20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp

 35 40 45
 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala

 100 105 110
 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140
 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro

 165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr

 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270

Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr

 290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys

 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg

 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu

 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn

515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His

 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val

 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn

 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Leu Thr Val Ala Leu Thr Arg Gln Ser Tyr

 740 745 750
 Ile Gln Arg Leu Asn Thr Leu Glu Ala Ser His Glu His Met Glu Lys
 755 760 765

Leu Val Lys Glu Ala Asn Thr Pro Tyr Lys Glu Lys Lys Ser Leu Leu
 770 775 780
 Glu Lys Trp Val Ala Leu Gln Pro His Phe Ser Val Glu Glu Val Thr
 785 790 795 800
 Thr Gln Val Asp Gly Ile Leu Val Ser Phe Arg Ala Gly Lys Arg Val
 805 810 815
 Thr Thr Pro Ala Arg Arg Ala Val Tyr His Gly Gly Lys Arg Thr Ile
 820 825 830
 Val Gln Arg Gly Ile Gln Val Pro Arg Gly Ala Leu Thr Glu Asp Thr
 835 840 845
 Ile Tyr Gly Lys Leu Gly Asp Lys Phe Val Val Lys Tyr Ala Leu Asp
 850 855 860
 His Pro Ser Met Lys Pro Glu Asn Ile Val Asp Pro Thr Ile Arg Leu
 865 870 875 880
 Leu Val Glu Asn Arg Ile Thr Ala Leu Gly Lys Lys Asp Ala Phe Lys
 885 890 895
 Thr Pro Leu Tyr Ser Ala Glu Gly Met Glu Ile Lys Ser Val Arg Cys
 900 905 910
 Tyr Thr Ser Leu Ser Glu Lys Gly Val Val Pro Ile Lys Tyr Asn Glu
 915 920 925
 Lys Gly Asn Ala Ile Gly Phe Ala Lys Lys Gly Asn Asn His His Val
 930 935 940
 Ala Ile Tyr Lys Asp Gln Ser Gly Gln Tyr Gln Glu Met Val Val Ser
 945 950 955 960
 Phe Trp Asp Ala Val Glu Arg Lys Leu Tyr Gly Val Pro Thr Val Ile
 965 970 975
 Thr Asn Pro Lys Thr Val Trp Asp Glu Leu Leu Glu Lys Glu Leu Pro
 980 985 990
 Gln Asp Phe Leu Glu Lys Leu Pro Lys Asp Asn Trp Gln Tyr Val Leu
 995 1000 1005
 Ser Met Gln Glu Asn Glu Met Phe Val Leu Gly Met Glu Glu Asp

1010 1015 1020
 Glu Phe Asn Asp Ala Ile Asp Thr Gln Asp Tyr Asn Thr Leu Asn
 1025 1030 1035
 Lys His Leu Tyr Arg Val Gln Lys Leu Ser His Ala Asp Tyr Thr
 1040 1045 1050
 Phe Arg Phe His Thr Glu Thr Lys Val Asp Asp Lys Tyr Asp Gly

1055 1060 1065
 Val Glu Asn Gly Arg Asn Thr Ser Met Ser Leu Lys Ala Leu Val
 1070 1075 1080
 Arg Ile Arg Ser Phe Asn Gly Leu Phe Thr Gln Phe Pro His Lys
 1085 1090 1095
 Val Lys Ile Asp Ile Met Gly Arg Ile Thr Lys Ala
 1100 1105 1110

<210> 19

<211> 1174

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_16-2 chimera

<400> 19

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45

 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
165 170 175

Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
180 185 190

Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
195 200 205

Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
210 215 220

Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
225 230 235 240

Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
245 250 255

Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
260 265 270

Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
275 280 285

Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
290 295 300

Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro

325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365

 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430

 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495

 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560

 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575

Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590

Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605

Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620

Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640

Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655

Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670

Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685

Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700

Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720

Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735

His His Ala Val Asp Ala Leu Val Val Ala Cys Thr Lys Gln Ser Tyr
 740 745 750

Ile Gln Arg Leu Asn Asn Leu Asn Thr Glu Arg Asp Ala Met Tyr Gln
 755 760 765

Asp Ile Glu Ala Gln Ser Val Glu Trp Lys Glu Lys His Ser Leu Leu
 770 775 780

Glu Lys Trp Ile Lys Leu Gln Pro His Pro Thr Val Ser Glu Val Thr
 785 790 795 800

Asp Lys Val Asp Glu Ile Leu Val Ser Phe Lys Ala Gly Lys Arg Val
 805 810 815

Ala Thr Leu Gly Lys Arg Ser Val Tyr Lys Asn Gly Lys Lys Thr Val

820	825	830	
Val Gln Asn Asn Ile Ile Val Pro Arg Gly Ala Leu Cys Glu Glu Ser			
835	840	845	
Val Tyr Gly Gln Ile Asn Leu Ile Glu Lys Asn Lys Pro Ile Lys Tyr			
850	855	860	
Leu Phe Glu Asn Pro Ser Leu Ile Phe Lys Pro Tyr Ile Lys Ala Leu			
865	870	875	880
Val Glu Glu Arg Leu Lys Glu Tyr Asn Gly Asp Thr Ser Lys Ala Ile			
885	890	895	
Ser Ser Leu Lys Asn Asn Pro Ile Tyr Leu Arg Lys Asp Lys Ser Val			
900	905	910	
Val Leu Glu Tyr Gly Thr Cys Tyr Lys Lys Glu Tyr Val Lys Lys Tyr			
915	920	925	
Ser Leu Asn Ser Ile Lys Ala Lys Asp Val Asp Ser Ile Ile Asp Lys			
930	935	940	
His Ile Arg Glu Val Val Arg Gln Arg Leu Glu Asp Asn Asn Asn Asn			
945	950	955	960
Glu Lys Ala Ala Phe Ala Ser Pro Leu Tyr Ala Asp Lys Gln Lys Gln			
965	970	975	
Ile Pro Ile Lys Ser Val Arg Cys Thr Thr Gly Ile Asn Ile Ala Ala			
980	985	990	
Pro Val Asn Tyr Asn Glu Ser Asn Asp Pro Ile Ser Phe Val Lys Pro			
995	1000	1005	
Gly Asn Asn His His Ile Ala Ile Tyr Lys Asp Lys Asp Gly Lys			
1010	1015	1020	
Arg Gln Glu His Ile Val Thr Phe Trp His Ala Val Glu Arg Lys			
1025	1030	1035	
Lys Tyr Gly Met Pro Val Val Ile Thr Asn Pro Lys Glu Ile Trp			
1040	1045	1050	
Asp Leu Ile Ile Glu Lys Ser Leu Asp Leu Pro Glu Ser Phe Leu			
1055	1060	1065	

Asn Cys Leu Pro Asn Ser Asp Trp Asn Tyr Glu Ile Ser Met Gln
 1070 1075 1080
 Gln Asn Glu Met Phe Val Met Gly Met Ser Glu Asp Glu Phe Gln
 1085 1090 1095
 Asp Ala Ile Arg Asn Asn Asp Tyr Lys Thr Leu Asn Lys Tyr Leu
 1100 1105 1110
 Tyr Arg Val Gln Ser Val Ser Glu Ser Asp Tyr Trp Leu Arg Leu
 1115 1120 1125

His Ile Glu Thr Met Asn Asp Lys Thr Pro Glu Gly Asn Ile Ile
 1130 1135 1140
 Lys Lys Tyr Tyr Arg Ile Lys Ser Ile Asn Thr Phe Phe Asn Phe
 1145 1150 1155
 Asn Pro His Lys Val Lys Ile Thr Leu Leu Gly Glu Ile Gln Ser
 1160 1165 1170

Ser

<210> 20

<211> 1094

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_18-1 chimera

<400> 20

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile

50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110

 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140
 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175

 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240

 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300

Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365

 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430

 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495

 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His

545 550 555 560

 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620

 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685

 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Val Val Gly Asn Val Tyr
 740 745 750

 His Glu Lys Phe Thr Lys Asn Pro Leu Arg Phe Val Arg Ser Gly Gln
 755 760 765
 Glu Tyr Ser Leu Asn Leu Ser Ala Leu Phe Gln Asn Trp Asn Ile Tyr
 770 775 780
 Lys Gly Gly Arg Val Ile Trp Gln Lys Gly Glu Asp Gly Ser Leu Glu
 785 790 795 800

Thr Val Arg Ala Arg Met Ala Lys Asn Asp Pro Met Val Thr Arg Tyr
 805 810 815

Cys Thr Glu Gly Arg Gly Ala Leu Tyr Asp Leu Gln Pro Met Lys Lys
 820 825 830

Ser Lys Gly Gln Leu Pro Leu Lys Ser Ser Asp Glu Arg Leu Gln His
 835 840 845

Ile Asp Arg Tyr Gly Gly Tyr Asn Lys Leu Ala Gly Ala Tyr Phe Thr
 850 855 860

Leu Ala Ala Tyr Tyr Lys Lys Gly Lys Arg Val Lys Ser Ile Glu Ser
 865 870 875 880

Val Pro Leu Tyr Leu Ala Ala Lys Leu Gln Arg Asp Pro Ala Ala Leu
 885 890 895

Gln Gln Tyr Leu Ala Asp Gln Leu Gly Thr Asp Arg Val Glu Ile Leu
 900 905 910

Val Pro Glu Ile Lys Leu Gly Thr Leu Phe Lys Trp Asn Gly Tyr Pro
 915 920 925

Met Thr Leu Ser Gly Arg Thr Gly Pro Gln Leu Leu Phe Arg Asn Ala
 930 935 940

Ala Glu Leu Arg Thr Asn Ala Glu Gln Glu Gln Tyr Ile Lys Lys Met
 945 950 955 960

Ser Arg Tyr Leu Glu Lys Cys Lys Gly Arg Lys Glu Pro Leu Pro Ile
 965 970 975

Arg Pro Ala Tyr Asp Lys Leu Thr Pro Glu Glu Asn Leu Gln Leu Tyr
 980 985 990

Asp Ala Phe Thr Gln Trp Leu Thr Ser Gly Ile Tyr Ala Lys Arg Leu
 995 1000 1005

Ser Leu Gln Gly Lys Phe Leu Leu Glu Lys Arg Asp Ala Phe Ala
 1010 1015 1020

Ala Leu Ser Pro Glu Ala Gln Val Arg Gln Leu Met Glu Ile Leu
 1025 1030 1035

His Leu Phe Gln Cys Asn Pro Val Ala Ala Asn Leu Ser Glu Leu

1040 1045 1050
 Gly Gly Ala Ala His Ala Gly Ile Leu Leu Ala Ser Lys Asn Ile
 1055 1060 1065

Asp Gly Lys Val Pro Val Ser Ile Val His Gln Ser Val Thr Gly
 1070 1075 1080
 Tyr Phe Thr Gln Glu Val Cys Leu Asn Asp Leu
 1085 1090

<210> 21

<211> 1101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_21-1 chimera

<400> 21

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp

1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45
 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg

65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110
 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp

130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe

145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro

165 170 175

Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu

180 185 190

Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val

195 200 205

Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu

210 215 220

Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr

225 230 235 240

Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro

245 250 255

Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr

260 265 270

Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val

275 280 285

Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr

290 295 300

Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp

305 310 315 320

Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro

325 330 335

Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr

340 345 350

Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys

355 360 365

Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu

370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu

385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val

450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly

465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn

515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly

580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620

Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn

 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu

 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Ala Val Ile Ala Cys Ile Thr Pro Gly Met
 740 745 750
 Ile Gln Lys Ile Thr Lys Tyr Ala Gln Asn His Glu Arg Phe Tyr Ala
 755 760 765
 Thr Ala Lys Gly Tyr Val Asp Ile Glu Thr Gly Glu Val Leu Thr Arg

 770 775 780
 Ser Glu Tyr Glu Ala Met Asp Asp Ile Arg Phe Pro Glu Pro Trp Pro
 785 790 795 800
 Gly Phe Arg Ser Glu Leu Glu Ala Arg Val Ser Glu His Pro Gln Glu
 805 810 815
 Ala Ile Ala Arg Leu Lys Leu Pro His Tyr Glu Asn Ser Glu Glu Ile
 820 825 830
 Arg Pro Ile Phe Val Ser Arg Met Pro Asn His Lys Val Thr Gly Ala

 835 840 845
 Ala His Leu Glu Thr Ile Arg Ser Lys Lys Gly Gly Ala Gly Ser Thr
 850 855 860
 Val Thr Lys Thr Ala Leu Pro Asp Leu Lys Leu Asp Lys Asn Gly Glu

865 870 875 880
 Ile Ala Gly Tyr Tyr Arg Lys Glu Asp Asp Pro Leu Leu Tyr Glu Ala
 885 890 895
 Leu Lys Ala Arg Leu Lys Ala Phe Gly Gly Asp Gly Lys Lys Ala Phe

 900 905 910
 Ala Glu Pro Phe His Lys Pro Lys His Asn Gly Glu Pro Gly Pro Ile
 915 920 925
 Val Lys Lys Val Lys Ile Gln Glu Ser Ala Thr Leu Thr Val Pro Val
 930 935 940
 Asn His Gly Ile Ala Ala Asn Gly Ser Met Val Arg Leu Asp Val Phe
 945 950 955 960
 His Val Asp Gly Asp Gly Tyr Tyr Phe Val Pro Ile Tyr Thr Ser Asp

 965 970 975
 Thr Val Lys Pro Glu Leu Pro Asn Arg Ala Val Val Ala Gly Arg Arg
 980 985 990
 Val Gln Glu Trp Lys Val Met Asp Asp Ser Tyr Phe Lys Phe Ser Leu
 995 1000 1005
 Tyr Pro Lys Asp Leu Ile Arg Ile Arg Ser Lys Lys Gly Ile Lys
 1010 1015 1020
 Leu Lys Ala Val Asn Arg Asn Ala Asp Leu Gln Glu Tyr Ser Thr

 1025 1030 1035
 Asn Asp Cys Leu Cys Tyr Phe Val Lys Phe Asn Ile Ser Thr Gly
 1040 1045 1050
 Ala Leu Ser Val Glu Asn His Asp Arg Lys Phe Glu Gln Pro Gly
 1055 1060 1065
 Leu Gly Gly Lys Thr Leu Leu Ser Ile Glu Lys Tyr Gln Val Asp
 1070 1075 1080
 Val Leu Gly Asn Tyr Ser Pro Val Ala Leu Pro Glu Lys Arg Met

 1085 1090 1095
 Lys Phe Arg
 1100

<210> 22

<211> 1172

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_22-2 chimera

<400> 22

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp

1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro

20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp

35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile

50 55 60

Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg

65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly

85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala

100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg

115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp

130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe

145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro

165 170 175

Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu

Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445

Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460

Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480

Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495

Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510

Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525

Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540

Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560

Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575

Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590

Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605

Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620

Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640

Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655

Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670

Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn

675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Ile Ala Ile Ala Cys Ile Asn Arg Ser Ile
 740 745 750
 Val Asn Tyr Leu Asn Asn Ala Ala Ala Asn Gln Thr Glu Arg Glu Asp
 755 760 765
 Leu Arg Arg Ala Val Cys Ile Pro Glu Arg Asn Gly Gln Thr Lys Arg
 770 775 780
 Gln Leu Arg Ser Pro Trp His Cys Phe Ala Arg Asp Ala Glu Asn Ala
 785 790 795 800
 Leu Arg Gln Ile Val Val Ser Phe Lys Gln Asn Leu Arg Val Ala Thr
 805 810 815
 Lys Ala Thr Asn Ser Tyr Glu Cys Phe Asp Thr Ala Ser Gly Lys Lys
 820 825 830
 Ile Arg Lys His Gln Ser Asn Arg Glu His Tyr Ala Ile Arg Lys Pro
 835 840 845
 Leu His Lys Asp Ser Val Tyr Gly Glu Val Ile Leu Thr Ser Ile Ala
 850 855 860
 Ser Val Asn Leu Lys Lys Ala Leu Leu Lys Ala Glu Arg Ile Leu Asp
 865 870 875 880
 Lys Arg Leu Lys Glu Lys Ile Phe Glu Leu Arg Lys Leu Tyr Asn Tyr
 885 890 895
 Ser Asn Lys Gln Ile Glu Glu His Leu Thr Lys Val Cys Ile Asn Cys
 900 905 910
 Pro Glu Trp Lys Asn Tyr Asp Phe Lys Lys Ile Ala Val Arg Ile Leu
 915 920 925

Ser Asn Asp Ala Asp Ala Thr His Ile Val Ala Ile Arg Lys Pro Leu
 930 935 940
 Asp Glu Ser Phe Asp Glu Val Lys Ile Asn Thr Ile Thr Asp Thr Gly
 945 950 955 960
 Ile Gln Lys Ile Leu Leu Asn His Leu Ser Arg Tyr Ala Asp Asp Pro
 965 970 975
 Lys Lys Ala Phe Ser Pro Glu Gly Ile Glu Asp Met Asn Ala Asn Ile
 980 985 990
 Ala Ser Leu Asn Gly Gly Lys Gln His Leu Pro Ile Tyr Lys Val Arg
 995 1000 1005
 Val Ser Glu Lys Asp Asn Gly Gly Tyr Phe Pro Ile Gly Gln Lys
 1010 1015 1020
 Gly Asn Arg Pro Lys Lys Tyr Val Thr Thr Ala Lys Asp Thr Asn
 1025 1030 1035
 Leu Phe Phe Ala Val Tyr Ala Asp Ser Lys Gly Lys Arg Ser Tyr
 1040 1045 1050
 Lys Thr Ile Asp Leu Arg Thr Ala Ile Glu Cys Arg Lys Gln Gly
 1055 1060 1065
 Leu Ser Val Ala Pro Ser Ile Asn Glu Lys Gly Asp Lys Leu Leu
 1070 1075 1080
 Phe Thr Leu Ser Pro Asn Asp Leu Val Tyr Met Pro Ser Glu Gly
 1085 1090 1095
 Glu Glu Ala Asn Gly Phe Ala Ile Asp Asn Asn Leu Asn Lys Asp
 1100 1105 1110
 Gln Ile Tyr Lys Met Val Ser Ala Asn Asn Lys Gln Cys Phe Phe
 1115 1120 1125
 Ile Pro His Thr Val Ala Asp Phe Ile Ser Arg Gly Glu Glu Tyr
 1130 1135 1140
 Asn Ser His Asn Lys Ile Glu Leu Thr Glu Asp Arg Arg Ser Ile
 1145 1150 1155
 Lys Glu His Cys Val Pro Leu Lys Val Asn Arg Leu Gly Lys

1160 1165 1170

<210> 23

<211> 1112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_23-1 chimera

<400> 23

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60

Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175

Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190

Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205

Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220

Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240

Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255

Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270

Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285

Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300

Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320

Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335

Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350

Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365

Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380

Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400

Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415

Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg

420	425	430
Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His		
435	440	445
Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val		
450	455	460
Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly		
465	470	475
480		
Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu		
485	490	495
Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His		
500	505	510
Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn		
515	520	525
Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu		
530	535	540
Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His		
545	550	555
560		
Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met		
565	570	575
Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly		
580	585	590
Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys		
595	600	605
Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val		
610	615	620
Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys		
625	630	635
640		
Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn		
645	650	655
Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr		
660	665	670

Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735

 His His Ala Val Asp Ala Tyr Leu Asn Ile Val Val Gly Asn Thr Tyr
 740 745 750
 Ser Thr Lys Phe Thr Asn Asn Pro Leu Asn Phe Ile Lys Ala Gly Ala
 755 760 765
 Lys Arg Pro Gln Asp Asn Gln Phe Lys Tyr Asn Met Asp Lys Ile Phe
 770 775 780
 Asp Tyr Asn Val Ile Ser Arg Gly Glu Arg Ala Trp Ile Ala Gly Ser
 785 790 795 800

 Asp Gly Ser Ile Cys Thr Val Lys Lys Phe Met Ser Arg Asn Thr Val
 805 810 815
 Leu Ile Thr Arg Lys Ala Lys Glu Val His Gly Ala Leu Ser Asn Lys
 820 825 830
 Ala Thr Ile Trp Gly Lys Asn Val Ala Lys Pro Gly Ala Tyr Leu Pro
 835 840 845
 Val Lys Ser Thr Asp Leu Lys Ala Gln Asp Val Thr Lys Tyr Gly Gly
 850 855 860

 Ile Thr Ser Ile Ala Asn Ser Gly Tyr Thr Leu Ala Glu Tyr Lys Val
 865 870 875 880
 Asn Gly Lys Thr Thr Arg Ser Leu Glu Ala Leu Pro Val Tyr Leu Gly
 885 890 895
 Arg Ala Glu Gln Leu Thr Glu Lys Thr Val Val Asp Tyr Leu Ser Ser
 900 905 910
 Ser Leu Gln Glu Ser Ser Lys Lys Lys Ile Glu Asp Ile Gln Val Arg

915 920 925
 Lys Leu Phe Ile Pro Gln Gly Ser Lys Val Lys Ile Asp Gly Phe Cys
 930 935 940
 Tyr Tyr Leu Gly Gly Lys Thr Gly Asp Ser Ile Tyr Leu Asn Asn Ala
 945 950 955 960
 Val Pro Leu Tyr Leu Ser Ser Thr Ser Glu Glu Tyr Leu Arg Lys Leu
 965 970 975
 Leu Lys Ala Val Glu Asn Asn Asn Tyr Asn Glu Arg Asp Lys Asn Gly
 980 985 990

 Gln Ile Ile Leu Thr Ala Pro Lys Asn Val Gln Leu Leu Ser Ser Ile
 995 1000 1005
 Phe Asp Lys Leu Arg Ser Lys Pro Phe Ser Asn Asn Lys Trp Asn
 1010 1015 1020
 Ile Tyr Phe Ser Ile Val Asn Gly Lys Glu Thr Lys Val Glu Gln
 1025 1030 1035
 Leu Phe Ser Lys Leu Ser Ile Asp Lys Gln Ala Glu Val Ile Ser
 1040 1045 1050

 Gln Ile Val Ile Trp Ile Asn Ser Ser Arg Gln Asn Val Asn Leu
 1055 1060 1065
 Ser Leu Ile Gly Gly Ser Ala His Ser Gly Thr Gln Ala Leu Ser
 1070 1075 1080
 Lys Thr Val Ser Arg Leu Asn Glu Cys Met Leu Ile Ser Gln Ser
 1085 1090 1095
 Ile Thr Gly Ile Tyr Glu His Ser Val Asp Leu Leu Thr Ile
 1100 1105 1110

<210> 24

<211> 1090

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_SaCas9 chimera

<400> 24

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp

1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro

 20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp

 35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile

 50 55 60

Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg

65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly

 85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala

 100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg

 115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp

 130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe

145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro

 165 170 175

Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu

 180 185 190

Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val

 195 200 205

Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu

 210 215 220

Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285

Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350

Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415

Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly

465 470 475 480

 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540

 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605

 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670

 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720

Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735

His His Ala Val Asp Ala Leu Ile Ile Ala Asn Ala Asp Phe Ile Phe
 740 745 750

Lys Glu Trp Lys Lys Leu Asp Lys Ala Lys Lys Val Met Glu Asn Gln
 755 760 765

Met Phe Glu Glu Lys Gln Ala Glu Ser Met Pro Glu Ile Glu Thr Glu
 770 775 780

Gln Glu Tyr Lys Glu Ile Phe Ile Thr Pro His Gln Ile Lys His Ile
 785 790 795 800

Lys Asp Phe Lys Asp Tyr Lys Tyr Ser His Arg Val Asp Lys Lys Pro
 805 810 815

Asn Arg Glu Leu Ile Asn Asp Thr Leu Tyr Ser Thr Arg Lys Asp Asp
 820 825 830

Lys Gly Asn Thr Leu Ile Val Asn Asn Leu Asn Gly Leu Tyr Asp Lys
 835 840 845

Asp Asn Asp Lys Leu Lys Lys Leu Ile Asn Lys Ser Pro Glu Lys Leu
 850 855 860

Leu Met Tyr His His Asp Pro Gln Thr Tyr Gln Lys Leu Lys Leu Ile
 865 870 875 880

Met Glu Gln Tyr Gly Asp Glu Lys Asn Pro Leu Tyr Lys Tyr Tyr Glu
 885 890 895

Glu Thr Gly Asn Tyr Leu Thr Lys Tyr Ser Lys Lys Asp Asn Gly Pro
 900 905 910

Val Ile Lys Lys Ile Lys Tyr Tyr Gly Asn Lys Leu Asn Ala His Leu
 915 920 925

Asp Ile Thr Asp Asp Tyr Pro Asn Ser Arg Asn Lys Val Val Lys Leu
 930 935 940

Ser Leu Lys Pro Tyr Arg Phe Asp Val Tyr Leu Asp Asn Gly Val Tyr
 945 950 955 960

Lys Phe Val Thr Val Lys Asn Leu Asp Val Ile Lys Lys Glu Asn Tyr

965 970 975
 Tyr Glu Val Asn Ser Lys Cys Tyr Glu Glu Ala Lys Lys Leu Lys Lys
 980 985 990

Ile Ser Asn Gln Ala Glu Phe Ile Ala Ser Phe Tyr Asn Asn Asp Leu
 995 1000 1005

Ile Lys Ile Asn Gly Glu Leu Tyr Arg Val Ile Gly Val Asn Asn
 1010 1015 1020

Asp Leu Leu Asn Arg Ile Glu Val Asn Met Ile Asp Ile Thr Tyr
 1025 1030 1035

Arg Glu Tyr Leu Glu Asn Met Asn Asp Lys Arg Pro Pro Arg Ile
 1040 1045 1050

Ile Lys Thr Ile Ala Ser Lys Thr Gln Ser Ile Lys Lys Tyr Ser
 1055 1060 1065

Thr Asp Ile Leu Gly Asn Leu Tyr Glu Val Lys Ser Lys Lys His
 1070 1075 1080

Pro Gln Ile Ile Lys Lys Gly
 1085 1090

<210> 25

<211> 1123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6_SpCas9 chimera

<400> 25

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110
 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140
 Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr

290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp

 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu

 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His

 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His

 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540

Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met

 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys

 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr

 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Val Val Gly Thr Ala Leu
 740 745 750
 Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu Ser Glu Phe Val Tyr Gly Asp Tyr

 755 760 765
 Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys Met Ile Ala Lys Ser Glu Gln Glu Ile
 770 775 780
 Gly Lys Ala Thr Ala Lys Tyr Phe Phe Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe

785 790 795 800
 Phe Lys Thr Glu Ile Thr Leu Ala Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro
 805 810 815
 Leu Ile Glu Thr Asn Gly Glu Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly

 820 825 830
 Arg Asp Phe Ala Thr Val Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn
 835 840 845
 Ile Val Lys Lys Thr Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser
 850 855 860
 Ile Leu Pro Lys Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp
 865 870 875 880
 Trp Asp Pro Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala Tyr

 885 890 895
 Ser Val Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys Leu
 900 905 910
 Lys Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg Ser Ser
 915 920 925
 Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys Gly Tyr Lys Glu
 930 935 940
 Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr Ser Leu Phe Glu

 945 950 955 960
 Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser Ala Gly Glu Leu Gln
 965 970 975
 Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser Lys Tyr Val Asn Phe Leu Tyr
 980 985 990
 Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys Gly Ser Pro Glu Asp Asn Glu
 995 1000 1005
 Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln His Lys His Tyr Leu Asp Glu

 1010 1015 1020
 Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu Phe Ser Lys Arg Val Ile Leu Ala
 1025 1030 1035

Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val Leu Ser Ala Tyr Asn Lys His Arg
 1040 1045 1050
 Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln Ala Glu Asn Ile Ile His Leu Phe
 1055 1060 1065
 Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala Pro Ala Ala Phe Lys Tyr Phe Asp
 1070 1075 1080
 Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg Tyr Thr Ser Thr Lys Glu Val Leu
 1085 1090 1095
 Asp Ala Thr Leu Ile His Gln Ser Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Thr
 1100 1105 1110
 Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu Gly Gly Asp
 1115 1120
 <210> 26
 <211> 1105
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 polypeptide
 <220><223> Category: MG3 chimeric effectors
 <220><223> Description: MG3-6_15-1-WP chimera
 <400> 26
 Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45

 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile
 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly

85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg
 115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175

Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190

Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205

Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220

Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240

Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255

Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270

Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285

Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300

Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp
 305 310 315 320

Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335

Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350

Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365

Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu
 370 375 380

Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu
 385 390 395 400

Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415

Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430

Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445

Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460

Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480

Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495

Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510

Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525

Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540

Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560

Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575

Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly

580 585 590

Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys

595 600 605

Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val

610 615 620

Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys

625 630 635 640

Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn

645 650 655

Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr

660 665 670

Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn

675 680 685

Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr

690 695 700

Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu

705 710 715 720

Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg

725 730 735

His His Ala Val Asp Ala Ala Val Met Thr Leu Leu Asn Arg Ser Val

740 745 750

Ala Leu Thr Leu Glu Gln Arg Ser Gln Leu Arg Arg Thr Phe Tyr Glu

755 760 765

Gln Gly Leu Asp Lys Leu Asp Arg Asn Gln Leu Lys Pro Glu Glu Asp

770 775 780

Trp Arg Asp Phe Thr Gly Leu Ala Pro Ala Ser Gln Glu Lys Phe Leu

785 790 795 800

Glu Trp Arg Lys Ala Ala Thr Ile Leu Gly Asp Leu Leu Ala Glu Ala

805 810 815

Ile Glu Asp Asp Ser Ile Ala Val Val Ser Pro Leu Arg Leu Arg Pro

820 825 830

Gln Asn Gly Ser Val His Leu Glu Lys Ile His Gly Pro Ala His Lys
 835 840 845

Glu Thr Ile Arg Ser Gly Arg Leu Lys Glu Glu Gly Tyr Thr Ile Ser
 850 855 860

Lys Thr Ala Leu Ile Asp Leu Lys Leu Thr Glu Asp Lys Glu Glu Ile
 865 870 875 880

Lys Gly Tyr Tyr Asn Lys Glu Ser Asp Arg Leu Leu Tyr Glu Ala Leu
 885 890 895

Lys Lys Gln Leu Gln Arg Tyr Gly Gly Lys Ala Lys Glu Ala Phe Lys
 900 905 910

Glu Pro Phe His Lys Pro Lys Ala Asp Gly Thr Pro Gly Pro Ile Val
 915 920 925

Asn Lys Val Lys Ile Met Glu Lys Ser Thr Met Leu Ile Pro Val Asn
 930 935 940

Gly Gly Lys Gly Leu Ala Ser Asn Gly Asn Met Val Arg Ile Asp Val
 945 950 955 960

Phe Arg Ala Glu Glu Lys Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Ile Pro Val
 965 970 975

Tyr Val Ala Asp Thr Val Lys Glu Glu Leu Pro Asn Arg Ala Val Leu
 980 985 990

Ala His Lys Pro Tyr Glu Ala Trp Lys Ile Met Lys Glu Glu Asn Phe
 995 1000 1005

Ile Phe Ser Leu Tyr Pro Asn Asp Leu Ile Phe Val Asp Ala Gly
 1010 1015 1020

Lys Glu Ile Pro Phe Lys Ala Ala Leu Lys Gly Ser Thr Leu Asp
 1025 1030 1035

Pro Glu Lys Lys Ala Ser Arg Phe Leu Met Tyr Tyr Lys Gly Ala
 1040 1045 1050

Asp Ile Ala Thr Gly Ser Ile Ser Gly Val Asn His Asp Glu Thr
 1055 1060 1065

Tyr Lys Ala Arg Gly Val Gly Ile Gln Ser Leu Arg Glu Ile Lys

1070 1075 1080
 Lys Cys Cys Ile Asp Val Leu Gly Asn Ile Ser Phe Ala Ser Lys
 1085 1090 1095
 Glu Lys Arg Gln Thr Phe Arg
 1100 1105
 <210> 27
 <211> 1074
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <220><223> Category: MG3 chimeric effectors

 <220><223> Description: MG3-6_15-1-P chimera
 <400> 27
 Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp
 1 5 10 15
 Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro
 20 25 30
 Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp
 35 40 45
 Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile

 50 55 60
 Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly
 85 90 95
 Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala
 100 105 110
 Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg

 115 120 125
 Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp
 130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe
 145 150 155 160
 Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro
 165 170 175
 Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu
 180 185 190
 Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val
 195 200 205
 Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu
 210 215 220
 Ala Glu Leu Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr
 225 230 235 240
 Glu Ala Leu Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro
 245 250 255
 Lys Glu Arg Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr
 260 265 270
 Ile Arg Ala Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val
 275 280 285
 Ala Asn Leu Arg Val Arg Ile Gly Ser Arg Ala Lys Arg Glu Leu Thr
 290 295 300
 Glu Ala Glu Tyr Asp Ala Ala Val Glu Phe Leu Met Asp Tyr Ala Asp

 305 310 315 320
 Lys Glu Gln Pro Ser Trp Ala Asp Val Ala Glu Lys Ile Gly Val Pro
 325 330 335
 Gly Asn Arg Leu Val Ala Pro Val Leu Glu Asp Val Gln Gln Lys Thr
 340 345 350
 Ala Pro Tyr Asp Arg Ser Ser Ala Ala Phe Glu Lys Ala Met Gly Lys
 355 360 365
 Lys Thr Glu Ala Arg Gln Trp Trp Glu Ser Thr Asp Asp Asp Gln Leu

 370 375 380
 Arg Ser Leu Leu Ile Ala Phe Leu Val Asp Ala Thr Asn Asp Thr Glu

385 390 395 400
 Glu Ala Ala Ala Glu Ala Gly Leu Ser Glu Leu Tyr Lys Ser Trp Pro
 405 410 415
 Ala Glu Glu Arg Glu Ala Leu Ser Asn Ile Asp Phe Glu Lys Gly Arg
 420 425 430
 Val Ala Tyr Ser Gln Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Glu Tyr Met His
 435 440 445
 Glu Tyr Arg Val Gly Leu His Glu Ala Arg Lys Ala Val Phe Gly Val
 450 455 460
 Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495
 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560
 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620
 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640

Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685
 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr

 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu
 705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala Ala Val Met Thr Leu Leu Asn Arg Ser Val
 740 745 750
 Ala Leu Thr Leu Glu Gln Arg Ser Gln Leu Arg Arg Thr Phe Tyr Glu

 755 760 765
 Gln Gly Leu Asp Lys Leu Asp Arg Asn Gln Leu Lys Pro Glu Glu Asp
 770 775 780
 Trp Arg Asp Phe Thr Gly Leu Ala Pro Ala Ser Gln Glu Lys Phe Leu
 785 790 795 800
 Glu Trp Arg Lys Ala Ala Thr Ile Leu Gly Asp Leu Leu Ala Glu Ala
 805 810 815
 Ile Glu Asp Asp Ser Ile Ala Val Val Ser Pro Leu Arg Leu Arg Pro

 820 825 830
 Gln Asn Gly Ser Val His Leu Glu Thr Ile Ser Ala Val Lys Lys Gln
 835 840 845
 Thr Leu Gly Ser Asp Trp Pro Ala Asp Ala Val Lys Arg Ile Val Asp
 850 855 860
 Pro Glu Ile Tyr Leu Ala Met Lys Asp Ala Leu Gly Lys Leu Lys Glu
 865 870 875 880
 Leu Pro Glu Asp Ser Ala Arg Ser Leu Glu Leu Pro Asp Gly Arg Phe

885 890 895
Val Glu Ala Asp Asp Glu Val Leu Phe Phe Pro Glu Asn Ala Ala Ser
900 905 910
Ile Leu Thr Pro Arg Gly Val Ala Glu Ile Asn Met Val Arg Ile Asp
915 920 925
Val Phe Arg Ala Glu Glu Lys Gly Lys Lys Lys Tyr Tyr Phe Ile Pro
930 935 940
Val Tyr Val Ala Asp Thr Val Lys Glu Glu Leu Pro Asn Arg Ala Val

945 950 955 960
Leu Ala His Lys Pro Tyr Glu Ala Trp Lys Ile Met Lys Glu Glu Asn
965 970 975
Phe Ile Phe Ser Leu Tyr Pro Asn Asp Leu Ile Phe Val Asp Ala Gly
980 985 990
Lys Glu Ile Pro Phe Lys Ala Ala Leu Lys Gly Ser Thr Leu Asp Pro
995 1000 1005
Glu Lys Lys Ala Ser Arg Phe Leu Met Tyr Tyr Lys Gly Ala Asp

1010 1015 1020
Ile Ala Thr Gly Ser Ile Ser Gly Val Asn His Asp Glu Thr Tyr
1025 1030 1035
Lys Ala Arg Gly Val Gly Ile Gln Ser Leu Arg Glu Ile Lys Lys
1040 1045 1050
Cys Cys Ile Asp Val Leu Gly Asn Ile Ser Phe Ala Ser Lys Glu
1055 1060 1065
Lys Arg Gln Thr Phe Arg
1070

<210> 28

<211> 121

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG1 sgRNA

<220><223> Description: MG1-4 sgRNA
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(22)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 28
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttttgat ttactcgaaa gagtccaatc ataattgacc 60
 ggagaataat tgattcctct acaatgtacg aataaattca ttctctaac cttaaaaatt 120
 t 121

<210> 29

<211> 99

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: MG1 sgRNA

<220><223> Description: MG1-5 sgRNA

<220><221> modified_base

<222> (1)..(22)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 29

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttttgac ttgaaaaagt cttaactgat ttgcccgaat 60
 tttaagctct acgtagtacc ttggaattcg gcatatttt 99

<210> 30

<211> 99

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: MG1 sgRNA

<220><223> Description: MG1-6 sgRNA

<220><221> modified_base

<222> (1)..(22)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 30
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttttgac ttgaaaaagt cttactgat ttgcccgaat 60
 ttcaagctct gcattgcacc ttggcattcg gcatatttt 99
 <210> 31
 <211> 99
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: MG1 sgRNA
 <220><223> Description: MG1-7 sgRNA
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(22)
 <223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 31
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttttgac ttgaaaaaa gtcttaactg attttgccga 60
 attttaagct ctgcatggca ccttgaaatt cgcatttt 99
 <210> 32
 <211> 100
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG2 sgRNA
 <220><223> Description: MG2-7 sgRNA
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(22)
 <223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 32
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngctttgcc ttgaaacaa gacaaagtta attaaggcag 60
 ttccgacctc tactttgtac gtcaggatag aaagcctttt 100
 <210> 33
 <211> 115

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3 sgRNA
 <220><223> Description: MG3-3 sgRNA
 <220><221> modified_base

<222> (1)..(22)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 33
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttgggaa tcttgaaaaa gattccaat aaggcacatt 60
 tttagtgtg acttctcacc gtccagggtt cattgaacaa tgggcggtat gtttt 115

<210> 34
 <211> 126
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3 sgRNA
 <220><223> Description: MG3-4 sgRNA
 <220><221> modified_base

<222> (1)..(22)
 <223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 34
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttgagaa tctttcatta gaaataacga aagattctta 60
 ataaggcgtc cttccgatgc tgacttctca cgtccggtt tccaatagga gcgggcggta 120
 tgtttt 126

<210> 35
 <211> 110
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3 sgRNA

<220><223> Description: MG3-6 sgRNA

<220><221> modified_base

<222> (1)..(22)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 35

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttcg 60

atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 36

<211> 110

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3 sgRNA

<220><223> Description: MG3-7 sgRNA

<220><221> modified_base

<222> (1)..(22)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 36

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttgggaa ccgaaagggt cccaataagg cgcattcttg 60

cgctgacttc tcaccgtcct cttgctgctt agcagagggc ggtatgtttt 110

<210> 37

<211> 110

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3 sgRNA

<220><223> Description: MG3-8 sgRNA

<220><221> modified_base

<222> (1)..(22)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 37
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttgagaa tcgaaagatt ctaataagg catccttccg 60
 atgctgactt ctcaccgtcc ggctcctctt aggaacgggc ggtatgtttt 110

<210> 38
 <211> 124
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG4 sgRNA
 <220><223> Description: MG4-5 sgRNA
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(22)
 <223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 38
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngctgtggc ttgcggggga aacccttgt cacagtaagg 60
 gactttcggt cgcgaaaggc aacctcgcca gcatcgctgg gcgaggacca gggcaaggcg 120
 attt 124

<210> 39
 <211> 118
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG14 sgRNA
 <220><223> Description: MG14-1 sgRNA
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(22)
 <223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 39
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngtettgag cgaagetcc agacaagggg agccaactaa 60
 gtggcttacc cgtaaagtaa cccccgttca atcttcggat tgggcggggc gaactttt 118
 <210> 40

<211> 118

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG15 sgRNA

<220><223> Description: MG15-1 sgRNA

<220><221> modified_base

<222> (1)..(22)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 40

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttgtaat tcctagaaa taggttatta caataaggtc 60

caacaggagt gttggtaccg taaagctcta acggcaccca cgggtgccgt tatctttt 118

<210> 41

<211> 162

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG16 sgRNA

<220><223> Description: MG16-2 sgRNA

<220><221> modified_base

<222> (1)..(22)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 41

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngtttgtaa ttgctttaa ttgaaaatt taagcaattc 60

acaataagga ttattccggt gtgaaaacat ttaaagcggg gtcaacagcc tcgctttctt 120

tttgagtcta tgagacatta ggtcaataag tctatgagtt tt 162

<210> 42

<211> 101

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG18 sgRNA

<220><223> Description: MG18-1 sgRNA

<220><221> modified_base

<222> (1)..(22)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 42

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngtttgaga gtagtgaaaa ctacgagttc aaatacaatt 60

ttttcaaatt gccctatagg gccctcacag tgtgagattt t 101

<210> 43

<211> 117

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG21 sgRNA

<220><223> Description: MG21-1 sgRNA

<220><221> modified_base

<222> (1)..(22)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 43

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttttagt tccccctttg aaaaaaagtg tgttactgca 60

ataaggtaaa acaccacgaa gctctgccct aactgcctta gcagttaggg catcttt 117

<210> 44

<211> 134

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG22 sgRNA

<220><223> Description: MG22-1 sgRNA

<220><221>

> modified_base
 <222> (1)..(22)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 44
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttgtgaa ttgctttcaa attagaaata attgaaagca 60
 attcgcaata aggattattc cgtttgataa acatttcgag tggttcctg aaattcacga 120
 agtcacttcg tttt 134
 <210> 45
 <211> 113
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG23 sgRNA
 <220><223> Description: MG23-1 sgRNA

 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(22)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 45
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngtttgaga acctgaaaag gtgagtgcaa ataaggttta 60
 accgaaattg ttacctgca ttgtgcagta taagaaagac cgcgaggctt ttt 113
 <210> 46
 <211> 4
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: MG1 PAM
 <220><223> Description: MG1-4 PAM
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(1)
 <223> a, c, t, g, unknown or other

 <400> 46

nrrr 4

<210> 47

<211> 6

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG1 PAM

<220><223> Description: MG1-5 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(4)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 47

nnnnyy 6

<210> 48

<211> 6

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG1 PAM

<220><223> Description: MG1-6 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(2)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 48

nnrray 6

<210> 49

<211> 7

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG1 PAM

<220><223> Description: MG1-7 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 49

nrrraag

7

<210> 50

<211> 6

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: MG2 PAM

<220><223> Description: MG2-7 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(3)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 50

nnnrta

6

<210> 51

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: MG3 PAM

<220><223> Description: MG3-3 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(3)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 51

nncccyr

8

<210> 52

<211> 8
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><223> Category: MG3 PAM
 <220><223> Description: MG3-4 PAM
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(2)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <220><221> modified_base
 <222> (8)..(8)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 52

nnaaaabn

8

<210> 53
 <211> 7
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: MG3 PAM
 <220><223> Description: MG3-6 PAM

<220><221> modified_base
 <222> (1)..(2)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <220><221> modified_base
 <222> (6)..(6)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 53

nnrggnt

7

<210> 54
 <211> 7

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<220><223> Category: MG3 PAM
<220><223> Description: MG3-7 PAM
<220><221> modified_base
<222> (1)..(2)
<223> a, c, t, g, unknown or other

<220><221> modified_base
<222> (4)..(4)
<223> a, c, t, g, unknown or other
<400> 54

nnrnyay

7

<210> 55

<211> 7

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG3 PAM
<220><223> Description: MG3-8 PAM
<220><221> modified_base
<222> (1)..(2)
<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 55

nnrggty

7

<210> 56

<211> 5

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG4 PAM

<220><223> Description: MG4-5 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 56

nrccv

5

<210> 57

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG14 PAM

<220><223> Description: MG14-1 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<220><221> modified_base

<222> (3)..(4)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 57

nrngrka

8

<210> 58

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG15 PAM

<220><223> Description: MG15-1 PAM

<220><221> modified_base

<222> (2)..(4)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<220><221> modified_base

<222> (6)..(6)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 58

cnncnaa

8

<210> 59

<211> 6

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG18 PAM

<220><223> Description: MG18-1 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(1)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 59

nrwart

6

<210> 60

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG3 chimeric PAM

<220><223> Description: MG3-6_3-2 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(2)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 60

nnrmywmw

8

<210> 61

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: MG3 chimeric PAM

<220><223> Description: MG3-6_3-3 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(2)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 61

nnhcccyr

8

<210> 62

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223>

> Category: MG3 chimeric PAM

<220><223> Description: MG3-6_3-4 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(2)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<220><221> modified_base

<222> (7)..(8)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 62

nnaaaann

8

<210> 63

<211> 7

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: MG3 chimeric PAM

<220><223

> Description: MG3-6_3-7 PAM

<220><221> modified_base

<222> (1)..(2)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 63

nnrnyay

7

<210> 64

<211> 7

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG3 chimeric PAM

<220><223> Description: MG3-6_3-8 PAM

<220><221

> modified_base

<222> (1)..(2)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 64

nnrggty

7

<210> 65

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG3 chimeric PAM

<220><223> Description: MG3-6_15-1-WP PAM

<220><221> modified_base

<222> (2)..(4)

<223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 65
 cnnncwaa 8

<210> 66
 <211> 8
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: MG3 chimeric PAM
 <220><223> Description: MG3-6_15-1-P PAM
 <220><221> modified_base
 <222> (1)..(4)

<223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 66
 nnnncwaa 8

<210> 67
 <211> 110
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)
 <220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 45 for targeting albumin intron 1

<400> 67
 tgccagtcc cgatcgttac aggttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60
 atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 68
 <211> 110
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)

<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence

78 for targeting albumin intron 1

<400> 68

aaataccagg cttccattac tagttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60

atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 69

<211> 110

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)

<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence

24 for targeting albumin intron 1

<400> 69

attacaaac atgacagaaa cagttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60

atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 70

<211> 110

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)

<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence

34 for targeting albumin intron 1

<400> 70

cttaggtcag tgaagagaag aagttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60

atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 71

<211> 110
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides(included in sgRNA)
 <220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 44 for targeting albumin intron 1
 <400> 71
 atgccagttc ccgatcgta cagttgagaa tcgaaagatt ctaataagg catccttccg 60

 atgctgactt ctaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgttt 110
 <210> 72
 <211> 110
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)
 <220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 87 for targeting albumin intron 1
 <400> 72
 cttctcggcg aaacacacc ctggtgagaa tcgaaagatt ctaataagg catccttccg 60
 atgctgactt ctaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgttt 110

 <210> 73
 <211> 110
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)
 <220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 81 for targeting albumin intron 1
 <400> 73

ctagaaaaat acaagcagag atgttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60
atgctgactt ctaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110
<210> 74
<211> 110
<212> DNA
<213>
> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide
<220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)
<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
72 for targeting albumin intron 1
<400> 74
aataataatc tagaaatcag cagttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60
atgctgactt ctaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110
<210> 75
<211> 110
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide
<220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)
<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
16 for targeting albumin intron 1
<400> 75
ctgcctgctc gaccatgcta tagttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60
atgctgactt ctaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110
<210> 76
<211> 110
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)

<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence

59 for targeting albumin intron 1

<400> 76

aggcaggccc tatgagaccg tagttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60

atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 77

<211> 110

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)

<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence

30 for targeting albumin intron 1

<400> 77

ttttaaaaat aataatgttg gtgttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60

atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 78

<211> 110

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)

<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence

20 for targeting albumin intron 1

<400> 78

tcgaccatgc tatactaaaa atgttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60

atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 79

<211> 110

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)
 <220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 84 for targeting albumin intron 1
 <400> 79
 atacaagcag agatgaaaaa acgttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60

 atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110
 <210> 80
 <211> 110
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)
 <220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 33 for targeting albumin intron 1
 <400> 80
 gcttaggtca gtgaagagaa gagttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60
 atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

 <210> 81
 <211> 110
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)
 <220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 64 for targeting albumin intron 1
 <400> 81
 aaagaaattt aaagctaagc ttgttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60

atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 82

<211> 110

<212> DNA

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)

<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 53 for targeting albumin intron 1

<400> 82

ctaagacaat ggtaaataag aagttgagaa tcgaaagatt ctaataagg catccttccg 60

atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 83

<211> 110

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)

<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 73 for targeting albumin intron 1

<400> 83

taatctagaa atcagcacta aagttgagaa tcgaaagatt ctaataagg catccttccg 60

atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 84

<211> 110

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)

<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 74 for targeting albumin intron 1
 <400> 84
 aatctagaaa tcagcactaa aggttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60
 atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110
 <210> 85
 <211> 110
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)
 <220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 13 for targeting albumin intron 1
 <400> 85
 cttaaattt ctttaatta aagttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60
 atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110
 <210> 86
 <211> 110
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3 Hepa1-6 targeting guides (included in sgRNA)
 <220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence
 19 for targeting albumin intron 1
 <400> 86
 ctcgaccatg ctatactaaa aagttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttccg 60
 atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110
 <210> 87
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: primer
 <220><223> Description: Amplify MG3-6(718-840) for
 MG3-6(1-840)_MG15-1(818-1082)
 <400> 87
 gtcacccgcg aaagtcgtcg cgccggcggc atcgatgaac gcatcctgtt 50

<210> 88
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: primer
 <220><223> Description: Amplify MG3-6(718-840) for
 MG3-6(1-840)_MG15-1(818-1082)
 <400> 88
 tagtctcttt gtggcagga ccgtggatct tctctaagtg aacagatcca tttt 54

<210> 89
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: primer
 <220><223> Description: Amplify MG15-1(818-1082) for
 MG3-6(1-840)_MG15-1(818-1082)
 <400> 89
 cgcccgcaaa atggatctgt tcacttagag aagatccacg gtcctgcc 48

<210> 90
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: primer
 <220><223> Description: Amplify MG15-1(818-1082) for
 MG3-6(1-840)_MG15-1(818-1082)
 <400> 90
 gtatcagtg gtggtggtgg tgggtctcga gacggaacgt ttggcgcttc 50

<210> 91
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: primer
 <220><223> Description: Amplify MG3-6(718-922) for
 MG3-6(1-922)_MG15-1(931-1082)
 <400> 91
 ggcgcgaaag acgtcgatgc gaaccatggt gatttccgct acgccacg 48

<210> 92
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: primer
 <220><223> Description: Amplify MG15-1(931-1082) for
 MG3-6(1-922)_MG15-1(931-1082)
 <400> 92
 tcctgacccc gcgtggcgta gcggaatca acatggttcg catcgacg 48

<210> 93
 <211> 38
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: primer

<220><223> Description: LA065 primer used for PCR in PAM enrichment assay

<220><221> modified_base

<222> (14)..(18)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 93

gctcttccga tctnnnnnat tgacggcggc atcggact 38

<210> 94

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: primer

<220><223> Description: LA125 primer used for PCR in PAM enrichment assay

<220><221> modified_base

<222> (14)..(18)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 94

gctcttccga tctnnnnngg tgttgccggg tgtcg 35

<210

> 95

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: primer

<220><223> Description: LA003 PAM enrichment adapter
(heteroduplex of LA003/LA011)

<400> 95

attgacggcg gcatcggact 20

<210> 96

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: primer

<220><223> Description: LA011 PAM enrichment adapter
(heteroduplex of LA003/LA011)

<400> 96

agtccgatgc cgccgtcaat t 21

<210> 97

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: primer

<220><223> Description: 57F primer used for Sanger
sequencing of edited Hepal-6 cells

<400> 97

tctggcaaaa tgaagtgggt 20

<210> 98

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: primer

<220><223> Description: 1072R primer used for Sanger
sequencing of edited Hepal-6 cells

<400> 98

tgccacattg ctcagcacag 20

<210> 99
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223>
 > Category: primer
 <220><223> Description: 132F primer used for Sanger
 sequencing of edited Hepal-6 cells
 <400> 99
 cgccgagaag cacgtaagag 20
 <210> 100
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: primer
 <220><223> Description: 282F primer used for Sanger
 sequencing of edited Hepal-6 cells
 <400> 100
 ttgcatctga gaacccttag g 21

 <210> 101
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: primer
 <220><223> Description: 446R primer used for Sanger
 sequencing of edited Hepal-6 cells
 <400> 101
 ccgtaataaa ttcaactgta tcc 23

<210> 102

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220>

<223> Category: primer

<220><223> Description: 460F primer used for Sanger
sequencing of edited Hepal-6 cells

<400> 102

gcctgctcga ccatgctata 20

<210> 103

<211> 8755

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: plasmid

<220><223> Description: pMGX3-6 plasmid

<400> 103

ctcgagcacc accaccacca ccaactgataa caaagcccga aaggaagctg agttggctgc 60

tgccaccgct gagcaataac tagcataacc ccttggggcc tctaaacggg tcttgagggg 120

ttttttgctg aaaggaggaa ctatatccgg attggcgaat gggacgcgcc ctgtagcggc 180

gcattaagcg cggcgggtgt ggtggttacg cgcagcgtga ccgctacact tgccagcgcc 240

ctagcgcceg ctcttttcgc tttcttccet tcctttctcg ccacgttcgc cggctttccc 300

cgtaagctc taaatcgggg gctcccttta gggttccgat ttagtgcttt acggcacctc 360

gaccccaaaa aacttgatta gggatgatgt tcacgtagtg ggccatcgcc ctgatagacg 420

gtttttcgcc ctttgacgtt ggagtcacg tctttaata gtggactctt gttccaaact 480

ggaacaacac tcaaccctat ctcggtctat tcttttgatt tataagggat tttgccgatt 540

tcggcctatt ggttaaaaaa tgagctgatt taacaaaaat ttaacgcgaa ttttaacaaa 600

atattaacgt ttacaatttc aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aaccctatt 660

tgtttatatt tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata acctgataa 720

atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg tgtcgcctt 780
 attccctttt ttgcggcatt ttgccttctt gtttttctc acccagaaac gctggtgaaa 840
 gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact ggatctcaac 900

 agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat gaggactttt 960
 aaagtcttgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg ccgggcaaga gcaactcggc 1020
 cgccgcatac actatttcca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat 1080
 ctacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtctg ccataacatc gactgataac 1140
 actcgggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac cgcttttttg 1200
 cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc 1260
 ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgcagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa 1320

 ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga ctggatggag 1380
 gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg gtttattgct 1440
 gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact ggggccagat 1500
 ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac tatggatgaa 1560
 cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tctactgatta agcattggta actgtcagac 1620
 caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc attttaatt taaaaggatc 1680
 taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga gttttcgttc 1740

 cactgagcgt cagacccctg agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc ttttttctg 1800
 cgcgtaactc gctgcttcca aacaaaaaaaa ccaccgctac cagcgggtgt ttgtttgccg 1860
 gatcaagagc taccaactct ttttcgaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca 1920
 aataactgtc ttctagtcta gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc ttagcaccg 1980
 cctacatacc tcgctctgct aatctgttta ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtcg 2040
 tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga 2100
 acgggggggtt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga cctacaccga actgagatac 2160

 ctacagcgtg agctatgaga aagcggcacg cttcccgaag ggagaaaggc ggacaggtat 2220
 ccggtaaagc gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg gggaaacgcc 2280
 tggatctttt atagtctgtt cgggtttcgc caactctgac ttgagcgtcg atttttgtga 2340
 tgctcgtcag gggggcggag cctatgaaa aacccagca acgcccctt tttacggttc 2400
 ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttctg cgttatcccc tgattctgtg 2460
 gataaccgta ttaccgctt tgagtgagct gataccctc gccgcagccg aacgaccgag 2520

cgcagcgagt cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcctga tgcggtatit tctccttacg 2580

 catctgtgcg gtatttcaca ccgcatatat ggtgcactct cagtacaatc tgctctgatg 2640
 ccgcatagtt aagccagtat acactccgct atcgctacgt gactgggtca tggctgcgcc 2700
 ccgacaccgg ccaacaccgg ctgacgcgcc ctgacgggct tgtctgctcc cggcatccgc 2760
 ttacagacaa gctgtgaccg tctccgggag ctgcatgtgt cagaggtitit caccgtcatc 2820
 accgaaacgc gcgaggcagc tgcggtaaag ctcatcagcg tggctgtgaa gcgattcaca 2880
 gatgtctgcc tgitcatccg cgtccagctc gttgagtitt tccagaagcg ttaatgtctg 2940
 gcttctgata aagcgggcca tgttaagggc ggtitititcc tgtttggtca ctgatgcctc 3000

 cgtgtaaggg ggattitctgt tcatgggggt aatgataccg atgaaacgag agaggatgct 3060
 cacgatacgg gttactgatg atgaacatgc ccggttactg gaacgtttgt agggtaaaca 3120
 actggcggta tggatgcggc gggaccagag aaaaatcact cagggtcaat gccagcgtit 3180
 cgttaataca gatgtagggt ttccacaggg tagccagcag catcctgcga tgcagatccg 3240
 gaacataatg gtgcaggcgg ctgacttccg cgtttccaga ctttacgaaa cacggaaacc 3300
 gaagaccatt catgtttgtg ctccagctgc agacgtititg cagcagcagt cgcttcacgt 3360
 tcgctcgcgt atcgggtgatt cattctgcta accagtaagg caaccccgcc agcctagccg 3420

 ggtcctcaac gacaggagca cgatcatgcg caccctggg gccgcatgc cggcgataat 3480
 ggctctcttc tcgccgaaac gtttgggtggc gggaccagtg acgaaggctt gagcggggc 3540
 gtgcaagatt ccgaataccg caagcgacag gccgatcatc gtcgctctcc agcgaagcg 3600
 gtctctcgccg aaaaatgacc agagcgtctc cggcacctgt cctacgagtt gcatgataaa 3660
 gaagacagtc ataagtgcgg cgacgatagt catgccccgc gccaccgga aggagctgac 3720
 tgggttgaag gctctcaagg gcatcggctg agatcccggt gcctaatgag tgagctaaat 3780
 tacattaatt gcgttgcgt cactgcccgc tttccagctg ggaaacctgt cgtgccagct 3840

 gcattaatga atcggccaac gcgcgggggag aggcggtitg cgtattgggc gccagggtgg 3900
 tttitctitit caccagtgag acgggcaaca gctgattgcc cttcaccgcc tggccctgag 3960
 agagttgcag caagcggctc acgctggttt gccccagcag gcgaaaatcc tgtttgatgg 4020
 tggttaacgg cgggatafaa catgagctgt cttcggatc gtcgtatccc actaccgaga 4080
 tatccgacc aacgcgcagc ccggactcgg taatggcgcg cattgcgccc agcgcctatc 4140
 gatcgttggc aaccagcatc gcagtgggaa cgatgcctc attcagcatt tgcattggtit 4200
 gttgaaaacc ggacatggca ctccagctgc cttcccgttc cgctatcggc tgaattgat 4260

tgcgagtgag atatttatgc cagccagcca gacgcagacg cgccgagaca gaacttaatg 4320
 ggcccgctaa cagcgcgatt tgctggtgac ccaatgcgac cagatgctcc acgcccagtc 4380
 gcgtaccgtc ttcattgggag aaaataatac tgttgatggg tgtctggtca gagacatcaa 4440
 gaaataacgc cggaacatta gtgcaggcag cttccacagc aatggcatcc tggatcatcca 4500
 gcggatagtt aatgatcagc ccaactgacgc gttgcgcgag aagattgtgc accgcccgtt 4560
 tacaggcttc gacgcccgtt cgttttacc aacacaccac cacgctggca cccagttgat 4620
 cggcgcgaga tttaatcgcc gcgacaattt gcgacggcgc gtgcagggcc agactggagg 4680

 tggcaacgcc aatcagcaac gactgtttgc cgcccagttg ttgtgccacg cggttgggaa 4740
 tgtaattcag ctccgccatc gccgcttcca ctttttcccg cgttttcgca gaaacgtggc 4800
 tggcctggtt caccacgcgg gaaacggtct gataagagac accggcatac tctgcgacat 4860
 cgtataacgt tactggtttc acattacca cctgaattg actctcttcc gggcgtatc 4920
 atgccatacc gcgaaaggtt ttgcgccatt cgatggtgtc cgggatctcg acgctctccc 4980
 ttatgcgact cctgcattag gaagcagccc agtagtaggt tgaggccgtt gacaccgcc 5040
 gccgcaagga atggtgcatg caaggagatg gcgccaaca gtccccggc cacggggcct 5100

 gccaccatac ccacgccgaa acaagcgtc atgagcccga agtggcgagc ccgatcttcc 5160
 ccatcggtga tctcggcgat ataggcgcca gcaaccgac ctgtggcgcc ggtgatgccg 5220
 gccacgatgc gtccggcgta gaggatcgag atctcgatcc cgcgaaatta atacgactca 5280
 ctataggaat tctgagcgga taacaattc cctctagaaa taattttgtt taacttaag 5340
 aaggagatat accatgtcaa ccgatatgaa gaattatcg attggcgtgg acgtcgggga 5400
 tgcgagcgta ggcttggcag cgattgagtt cgacgacgac gggctgccga ttcagaaact 5460
 ggcattagtt acctttcgtc atgacgggtg cctcgacca accaagaaca aaacgcctat 5520

 gtgcgcaaaa gagaccgcg ggatcgcgcg ccgaccatg cgtatgaatc gcgaacgcaa 5580
 acgccgcctt cgcaatttgg acaacgtact ggagaactta ggctatagcg tacctgaggg 5640
 acctgaaccg gaaacttac aagcctggac gagccgcgca ctcttggcaa gcattaatt 5700
 agcatccgcc gacgaattaa acgaacacct ggttcgtgcc gttcgccaca tggcgcgcca 5760
 tgcggtggtg gcaaacccct ggtggagcct ggatcaactc gaaaaggcat cacaagaacc 5820
 cagcgaaac ttcgaaatca tcttagcag cgcacgcgaa ttattcggcg agaaagtacc 5880
 agcgaacccc accttggga tgctgggagc gctggcggca aacaacgaag tgctgctccg 5940

 cccacgtgac gagaagaac gcaaacggg atacgtacgt ggaacgccgt tgatgttcgc 6000
 acaagtgcgc caagcgatc aattagccga attacgccgc atctgtgaag tacaaggcat 6060
 cgaagatcaa tatgaagcgc tgcgtctggg tctctttgat cacaacatc cgtacgtccc 6120

aaaagagcgc gttggcaaag atccgttga cccgagcacc aacctacca tccgcgcaag 6180
 ccttgaattc caagaatttc gtatcttaga cagtgttgcc aatctccgcg ttcgtatcgg 6240
 cagtcgcgcc aaacgcgaac tcaccgaagc ggaatacgac gcagcggtag aatttctgat 6300
 ggattacgcg gacaaagagc agcctagtig ggcggacgtg gcggaaaaga tcggggtgcc 6360

 gggcaatcgt ctggtagccc ccgtcttaga agacgtacaa cagaaaacag ccccttacga 6420
 tcgttcttct gcggcgttcg aaaaggctat ggggaagaaa actgaagccc gccaatggtg 6480
 ggagtcgacg gacgacgac aactgcgcag ccttctgacg gcgttcctgg tggacgccac 6540
 taatgacacc gaggaagctg ccgcggaagc cggattaagc gaattgtaca aatcctggcc 6600
 cgcggaagag cgcgaggctt taagcaatat cgacttcgaa aagggtcgcg tggcgtactc 6660
 acaagaaca ctgtccaagt taagtgaata tatgcacgaa tatcgcgtcg ggctgcatga 6720
 agcacgtaaa gcagtatttg gggttgacga cacgtggcgc ccacctctgg acaaattaga 6780

 agagcctacc ggacaacctg cagtagaccg tgtcctcacc atcttacgcc gcttcgtatt 6840
 ggactgcgaa cgccaatggg gtcgcctcgc tgccatcacc gtagagcaca ctgcactgg 6900
 tcttatgggc ccgactcaac gccaaaagat ctggaacgaa caaaagaaga atcgcgcaga 6960
 caacgaacgc atccgtgacg aactgcgcga aagcggagtt gacaaccaa gtcgtgctga 7020
 ggtgcgccgt cacttaatcg ttcaagaaca agaatgcaa tgtctgtatt gtggtacat 7080
 gatcacaact accaccagc aactcgacca catcgtacca cgcgcaggcg gtggcagcag 7140
 ccgcccgaa aacttggccg ccgtatgtcg gcctgcaac gcaaagaaga aacgcgagtt 7200

 gttttacgcc tggcggggac cggtcaaate ccaagaaaca atcgaacgcg tgcgtcaact 7260
 gaaagcattc aaagactcaa agaaagctaa gatgtttaag aaccaaatec gccgcctgaa 7320
 ccaaacagaa gcggacgaac ctatcgacga acgctctctc gcgagcaca gctacgtgc 7380
 cgttgcgctc cgcgaacgt tagagcaaca tttcaacgaa ggactggccc tcgatgacaa 7440
 atcacgtgtc gttttagacg tgtatgcggg cgcggtcacc cgcgaaagtc gtcgcgccgg 7500
 cggcatcgat gaacgcatec tgttgcgtgg cgaacgtgac aagaatcgct tcgacgttcg 7560
 tcaccatgcc gtggacgcgg cagtaatgac gttgttgaat cgctctgtgg cattaacgt 7620

 cgaacaacgt tcgcaacttc gtcgtacctt ctacgaacaa ggcttgaca agttagatcg 7680
 caaccaatta aaaccgagg aagactggcg cgatttcaca gggttagccc cagccagcca 7740
 agagaaattt ctggaatggc gcaaagcggc gaccatctta ggggatcttc tggccgaagc 7800
 aattgaagac gatagcatcg ccgtggtatc tccgttacgc cttcggccgc aaaatggatc 7860
 tgttcactta gagaccatta gcgcggttaa gaaacagacg ctgggaagcg actggccggc 7920
 agacgccgctc aaacgcatec tcgaccctga aatctacctt gcaatgaaag acgcgctggg 7980

gaaattaa gaattgccgg aagactccgc tcgtagcctg gaattacctg acgggctgtt 8040

cggtgaagcg gacgacgaag tgctcttctt tcccgaataat gcggccagca tcttgacccc 8100

gcgtggcgta gcggaatcg gcggaagcat ccaccacgcg cgtctgtatg ggtggttaac 8160

caagaaaggt gaattaaag ttggcatgct gcgcgtatac ggcgccgaat ttccatggct 8220

tatgcgcgaa tcgggcagcc gtaactgtct ctctatgcct atccatcgcg gcagccaatc 8280

atctcgcgac atgcaagata ctaccgcaa ggcggtagag tccggggaag cagtagaatt 8340

cgcattgatc acgcaaatg acgaattaga attcgaccct gacgattata tcgcgcacgg 8400

cggtaaagac gaactccgcc agttcttagg ctcatgcct gagtgtcgtt ggcgcgtcga 8460

cggttcaag aagaattacc aaattcgcat ccgtccggcc atgtgtcgc gcgagcaact 8520

tcccagtgat atccaacgcc gcctggagag caagaccttg acgaagaatg agacccttct 8580

gttaaaggcc ttagacacgg ctttagtggg ggccatcggt ggctgctgc cgttgagac 8640

cctgaaagt atccgctgta acaatctggg tttccgcgc tggcgtggca acggttaactt 8700

gcccaccagt ttcgaggtgc gctccagcgc tctgcgcgcg cttggagtag agggg 8755

<210> 104

<211> 8599

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: plasmid

<220><223> Description: pMGX15-1 plasmid

<400> 104

ctcgagcacc accaccacca ccaactgataa caaagcccga aaggaagctg agttggctgc 60

tgccaccgct gagcaataac tagcataacc ccttggggcc tctaaccggg tcttgagggg 120

ttttttgctg aaaggaggaa ctatatccgg attggcgaat gggacgcgcc ctgtagcggc 180

gcattaagcg cggcgggtgt ggtggttacg cgcagcgtga ccgctacact tgccagcgc 240

ctagcgcgcc ctcttttccg tttcttccct tcttttctcg ccacgttcgc cggttttccc 300

cgtaagctc taaatcgggg gctcccttta gggttccgat ttagtgcttt acggcacctc 360

gacccccaaa aacttgatta gggatgatgt tcacgtagtg ggccatcgcc ctgatagacg 420

gttttttccg ctttgacgtt ggagtcacag ttctttaata gtggactctt gttccaaact 480

ggaacaacac tcaaccctat ctccgtctat tcttttgatt tataagggat ttgcccgatt 540

tcggcctatt gggttaaaaa tgagctgatt taacaaaaat ttaacgcgaa ttttaacaaa 600
atattaacgt ttacaatttc aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aacccttatt 660
tgtttatttt tctaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa 720
atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg tgtcgcctt 780

attccctttt ttgcggcatt ttgccttctt gtttttctc acccagaaac gctggtgaaa 840
gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact ggatctcaac 900
agcggtaaga tccttgagag ttttcgccc gaagaacgtt ttccaatgat gacactttt 960
aaagtctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg ccgggcaaga gcaactcgg 1020
cgccgatac aciatttca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat 1080
cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcaagtctg ccataacatc gactgataac 1140
actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac cgcttttttg 1200

cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc 1260
ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgcagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa 1320
ctattaactg gcgaactact tactetaget tcccggcaac aattaataga ctggatggag 1380
gcbgataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg gtttattgct 1440
gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact ggggccagat 1500
ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac tatggatgaa 1560
cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcaactgatta agcatttgta actgtcagac 1620

caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt taaaaggatc 1680
taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga gttttcgttc 1740
cactgagcgt cagaccctg agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc ttttttctg 1800
cgcgtaactc gctgcttca aacaaaaaaaa ccaccgtac cagcgggtgt ttgtttgccc 1860
gatcaagagc taccaactct ttttcgaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca 1920
aatactgtcc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc ttagcaccg 1980
cctacatacc tcgctctgct aatctgttga ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtcg 2040

tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccgata aggcgcagcg gtcgggctga 2100
acgggggggtt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga cctacaccga actgagatac 2160
ctacagcgtg agctatgaga aagcggcagc cttcccgaag ggagaaaggc ggacaggtat 2220
ccggtaaagc gcagggctcg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg gggaaacgcc 2280
tggtatcttt atagtctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg atttttgtga 2340
tgctcgtcag gggggcggag cctatgaaa aacccagca acgcccctt ttacggttc 2400

ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttctcg cgttatcccc tgattctgtg 2460

gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg aacgaccgag 2520

cgcagcagagt cagtgagcga ggaagcggaa gagcgctga tgcggtatit tetccctacg 2580

catctgtgcg gtatttcaca ccgcatatat ggtgcactct cagtacaatc tgctctgatg 2640

ccgcatagtt aagccagtat acactccgct atcgctacgt gactgggtca tggctgcgcc 2700

ccgacacccg ccaacacccg ctgacgcgcc ctgacgggct tgtctgtctcc cggcatccgc 2760

ttacagacaa gctgtgaccg tctccgggag ctgcatgtgt cagaggtttt caccgtcatc 2820

accgaaacgc gcgaggcagc tgcggtaaag ctcatcagcg tggctcgtgaa gcgattcaca 2880

gatgtctgcc tgitcatccg cgtccagctc gttgagttc tccagaagcg ttaatgtctg 2940

gcttctgata aagcgggcca tgttaagggc ggttttttcc tgtttggtca ctgatgcctc 3000

cgtgtaaggg ggatttctgt tcatgggggt aatgataccg atgaaacgag agaggatgct 3060

cacgataccg gttactgatg atgaacatgc ccggttactg gaacgtttgt agggtaaaca 3120

actggcggta tggatgcggc gggaccagag aaaaatcact cagggtcaat gccagcgtt 3180

cgttaataca gatgtaggtg ttccacaggg tagccagcag catcctgcga tgcagatccg 3240

gaacataatg gtgcaggcgc ctgacttccg cgtttccaga ctttacgaaa cacggaaacc 3300

gaagaccatt catgttgttg ctcaggctgc agacgttttg cagcagcagt cgcttcacgt 3360

tcgctcgcgt atcggtgatt cattctgctc accagtaagg caacccccgc agcctagccg 3420

ggtcctcaac gacaggagca cgatcatcgc caccctggg gccgccatgc cggcgataat 3480

ggcctgcttc tcgccgaaac gtttgggtgc gggaccagtg acgaaggctt gagcgagggc 3540

gtgcaagatt ccgaataccg caagcgacag gccgatcatc gtcgcgctcc agcgaaagcg 3600

gtcctcgccg aaaaatgacc agagcgctgc cggcacctgt cctacgagtt gcatgataaa 3660

gaagacagtc ataagtgcgg cgacgatagt catgccccgc gccaccgga aggagctgac 3720

tgggttgaag gctctcaagg gcatcggctg agatcccgtt gcctaatgag tgagctaact 3780

tacattaatt gcgttgcgct cactgccccg tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct 3840

gcattaatga atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gccagggtgg 3900

tttttcttt caccagtgag acgggcaaca gctgattgcc cttcacgcc tggccctgag 3960

agagttgcag caagcggfcc acgtggttt gccccagcag gcgaaaatcc tgtttgatgg 4020

tggttaacgg cgggatataa catgagctgt cttcggtatc gtcgtatccc actaccgaga 4080

tatccgcacc aacgcgcagc ccggactcgg taatggcgcg cattgcgccc agcgcctct 4140

gatcgttggc aaccagcatc gcagtgggaa cgatgccctc attcagcatt tgcattggtt 4200
gttgaaaacc ggacatggca ctccagtcgc cttcccgttc cgctatcggc tgaatttgat 4260
tgcgagttag atatttatgc cagccagcca gacgcagacg cgccgagaca gaacttaatg 4320
ggcccgctaa cagcgcgatt tgctggtagac ccaatgcgac cagatgctcc acgcccagtc 4380
gcgtaccgtc ttcattggag aaaataatac tgttgatggg tgtctggtca gagacatcaa 4440
gaaataacgc cggaacatta gtgcaggcag cttccacagc aatggcatcc tggteatcca 4500
gcggatagtt aatgatcagc ccaatgacgc gttgcgcgag aagattgtgc accgccgctt 4560

tacaggcttc gacgccgctt cgttctacca tcgacaccac cacgctggca cccagttgat 4620
cggcgcgaga tttaatcgcc gcgacaattt gcgacggcgc gtgcagggcc agactggagg 4680
tggcaacgcc aatcagcaac gactgtttgc cgccagttg ttgtgccacg cggttgggaa 4740
tgaattcag ctccgccatc gcccttcca ctttttccg cgttttcgca gaaacgtggc 4800
tggcctggtt caccacgagg gaaacggctt gataagagac accggcatac tctgcgacat 4860
cgtataacgt tactggtttc acattacca cctgaattg actctctcc gggcgtatc 4920
atgccatacc gcgaaagggt ttgcgccatt cgatgggtgc cgggatctcg acgctctccc 4980

ttatgcgact cctgcattag gaagcagccc agtagtaggt tgaggccgtt gagcaccgcc 5040
gccgcaagga atggtgcatg caaggagatg gcgccaaca gtccccggc cacggggcct 5100
gccaccatac ccacgccgaa acaagcgtc atgagcccga agtggcgcgac ccgatcttc 5160
ccatcggtag tctcggcgat ataggcgcca gcaaccgcac ctgtggcgcc ggtgatgccg 5220
gccacgatgc gtccggcgta gaggatcgag atctcgatcc cgcgaaatta atacgactca 5280
ctataggaat tctgagcggg taacaattcc cctctagaaa taattttgtt taactttaag 5340
aaggagatat accatgaact atgtgctcgg cctggacgac ggtattgctt cagtgggatg 5400

ggccgtgctt gacttgaatg aagaggacaa cccattcgc attgagggtc ttggtgcgcg 5460
catcttcgat aaagcggaag tgccaaaac cggggccagt ctccggcac ctctcgcgat 5520
gagtcgtggc atccgtcgcg tgattcgtcgc tgcggcttt cgtttacaac gcgtccgctc 5580
atacctgaag aagcacaaca ttctccctgc cgagaagggt gatcacttat acgacgttcc 5640
atctgccatc gacatctacg agctccgtaa gcgcgactg actgagaagg tcacagccga 5700
ggagtggggc cgctgttaa tcttcttcgc gaaacaccgt ggtttcaagt ccaaccgcaa 5760
gaaggcttcg ggagacgccg acgagggcga gatgctcaag gcgatcgcag caaacgccga 5820

aatcctgaag aactatcgta cagtgggaga gatgctgtgc gacaacgaga agtttcgtaa 5880
acgtaagcgt aatcgcgatg gcgcatacaa ctttactgct tctcgtgcga tgctgatgga 5940
agaaattcac acgctgttcg agattcaacg caacttgggc cagaagttcg cggacgagaa 6000

gctggaagag gactacgtga tcctcttcgc cgtcaacgt aaattcgatg aaggacctgg 6060
agaaaattcg ccgtacgcgg ggaaccagat tgagaagatg atcggttcct gcacgttaga 6120
gggcaagaaa gagaagcgtg ctccaaaggc ctcatagca tttatggcat ttaatttatg 6180
gcaaaagatc aatcacttga aagtcaatcg tcgtggtagt gaacgcttcc tgaccgaaga 6240

ggagcggcgc cgcattgcgg acctggcgtg gaagaaggag aagcttacct acggttcaact 6300
gcgtaagggtg ctctcgttgg accccgagga tcgcttcggt ggccctgcgtt acgacctcaa 6360
gaaaggcaag gccgagaact tagaagaacc cgtttctgag gcagaaaagc gttccttttc 6420
atgggtcaag gattatcact ccattcgtaa ggcccttgac aaggtggaga agaatcgcat 6480
tttgaagtc tctcacgagc aactggacac aattgccacc gcgttttagtg tttacaagaa 6540
cgaagagacc attgaaaagt acctggaaga gggcggcatt ggtaaggccg acggtgaggc 6600
gctgcttgag cgtttgagcg gatttagcaa gtttgggtcac ctgagcctga aggctgtta 6660

taagctgctg ccgttcctgg agaagggcga ggtgtactca cgcgcttggtg agttggcggg 6720
gtacgacttt agtaaatcgt ccttgagaaa cattgacgac attccgaacc cggctgtaaa 6780
gcgctcgatt tctcagacc ttaaggtgat taacgcgac atctctgcgt acggcaacc 6840
agttgaggtt cacattgagt tagcacgtga gctcgccgt tcttttcgag accgcaagaa 6900
gatggagaag ggtatgcaag agaaccaagc gaagaacgag aaaattcgtc agcgcctgat 6960
tagtgagttc ggggtgctgc gccc aaaagg catggacatt gttaagttca aattatgta 7020
ggaacaaaac ggggagtgtg cctactcgca aaagcacttt gacatggaaa agttacttaa 7080

ggacccgagt tacgccgagg ttgaccacat tatcccgtac tcacgctcat tcgacgacag 7140
ttataacaac aaggtgctgg ttctgacgaa ggagaatcgt gagaaacgta atcgatccc 7200
gatggagtac ctgcgccagc gcctgagcg caagaaccgt ttcattcact gggtaaatc 7260
cacaatccgc aatagtcgca aacgtgagaa tcttctgcgt accgattaca cggcgactac 7320
cgagaatgag tggaaagccc gtaacctgca ggacactcaa tacatttcga aatatttata 7380
taactacctg cgccatcacc tggctcctgc gaaaggttac acagagcgtg agcgtcgcat 7440
cattccggtt aacggtgctg taaccgcata ctttcgcaa cgcctgggta ttaacaagat 7500

tcgtgagaat ggcgacctgc atcacgcgtt ggacgccgtt attattgctg gtccacaca 7560
gggaatcgtc acaaaagttt cccctatag taaatcgcgc gaactctggg actacaggtt 7620
cgacatggag acgggtgagg tgctgcagaa gaagaacaag aataccaagg atgtctttcc 7680
ggagccgtgg cttaactttc gttacgagt ggagcagaag gttcgtgtgc gcccttggg 7740
cattcccag acggcgagca tcacggagat ggaagagccg ttcgttagtc atatgcctaa 7800
ccgtaagatc cacggtcctg cccacaaaga gactatccgc tctggccgcc ttaaagagga 7860

aggttacaca atcagcaaga ccgctctcat cgacttaaag cttactgagg acaaggaaga 7920

gattaagggc tattataaca aggagtcgga ccgccttttg tacgaggctt taaagaagca 7980

gctgcagcgc tacggtggca aagctaagga agcgttcaag gagccgttcc acaagcctaa 8040

agcagatggt accccgggcc caatcgtaa caaggtaaag atcatggaga agagcactat 8100

gttaatccc gtgaacggcg ggaagggtct cgcgtcaaac ggcaacatgg ttcgcatcga 8160

cgcttttcgc gccgaggaga aagtaagaa gaaatattac ttcaccccgg tttatgttgc 8220

tgacactggt aaggaagagc ttccgaaccg tgcggtcttg gccacaaac catacgaagc 8280

ctggaaaatt atgaaggaag aaaacttcat cttctcctc taccgaacg accttatctt 8340

cgtcgacgcc ggaaggaata tcccgttaa agccgcactg aagggtagca cccttgaccc 8400

ggaaaagaaa gcatcgcgtt tcctgatgta ctacaaagg gccgacatcg ctaccgtag 8460

tattagtggc gtgaaccacg acgaaaccta caagcagcg ggcttaggta ttcagtcact 8520

gcgcgagatt aagaaatggt gcattgacgt gctgggcaac atcagcttcg cttccaaaga 8580

gaagcgccaa acgttcctg 8599

<210> 105

<211> 7579

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: plasmid

<220><223> Description: pAL3 plasmid

<400> 105

ctcgagcacc accaccacca ccaactgataa caaagcccga aaggaagctg agttggctgc 60

tgccaccgct gagcaataac tagcataacc ccttggggcc tctaacggg tcttgagggg 120

ttttttgctg aaaggaggaa ctatatccgg attggcgaat gggacgcgcc ctgtagcggc 180

gcattaagcg cggcgggtgt ggtggttacg cgcagcgtga ccgctacact tgccagcgcc 240

ctagcgcgcc ctcttttcgc tttcttcct tcctttctcg ccacgttcgc cggtttccc 300

cgtaagctc taaatcgggg gctcccttia gggttccgat ttagtgcttt acggcacctc 360

gaccccaaaa aacttgatta gggatgatgt tcacgtagtg ggccatcgcc ctgatagacg 420

gtttttgcgc ctttgacgtt ggagtcacag tcttttaata gtggactctt gttccaaact 480

ggaacaacac tcaaccctat ctcggtctat tcttttgatt tataagggat ttgcccgatt 540

tcggcctatt gggttaaaaa tgagctgatt taacaaaaat ttaacgcgaa ttttaacaaa 600
 atattaacgt ttacaatttc aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aacccttatt 660
 tgtttatfff tctaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa 720
 atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc aacatttccg tgtcgcctt 780

attccctfff ttgcggcatt ttgccttctt gtttttctc acccagaaac gctggtgaaa 840
 gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt acatcgaact ggatctcaac 900
 agcggtaaga tccttgagag ttttcgccc gaagaacgtt ttccaatgat gaggcacttt 960
 aaagtctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg ccgggcaaga gcaactcgg 1020
 cgccgatac actatttca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat 1080
 ctacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcaagtctg ccataacatc gactgataac 1140
 actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac cgcttttttg 1200

cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc 1260
 ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgcagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa 1320
 ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga ctggatggag 1380
 gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg gtttattgct 1440
 gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca ttgcagcact ggggccagat 1500
 ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga gtcaggcaac tatggatgaa 1560
 cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcaactgatta agcattggtg actgtcagac 1620

caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt taaaaggatc 1680
 taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga gttttcgttc 1740
 cactgagcgt cagaccctgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc ttttttctg 1800
 cgcgtaactt gctgcttca aacaaaaaaaa ccaccctac cagcgggtgt ttgtttgccc 1860
 gatcaagagc taccaactct ttttcgaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca 1920
 aatactgtcc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc ttagcaccg 1980
 cctacatacc tcgctctgct aatctgttta ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtcg 2040

tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccgata aggcgcagcg gtcgggctga 2100
 acgggggggtt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga cctacaccga actgagatac 2160
 ctacagcgtg agctatgaga aagcggcacg cttcccgaag ggagaaaggc ggacaggtat 2220
 ccggtaaagc gcagggctcg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg gggaaacgcc 2280
 tggatctttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg atttttgtga 2340
 tgctcgtcag gggggcggag cctatgaaa aacccagca acgcccctt ttacggttc 2400

ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttctcg cgttatcccc tgattctgtg 2460

gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg aacgaccgag 2520

cgcagcagagt cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcctga tgcggtatit tetccctacg 2580

catctgtgcg gtatttcaca ccgcatatat ggtgcactct cagtacaatc tgctctgatg 2640

ccgcatagtt aagccagtat acactccgct atcgtctacgt gactgggtca tggctgcgcc 2700

ccgacacccg ccaacacccg ctgacgcgcc ctgacgggct tgtctgtctcc cggcatccgc 2760

ttacagacaa gctgtgaccg tctccgggag ctgcatgtgt cagaggtttt caccgtcatc 2820

accgaaacgc gcgaggcagc tgcggtaaag ctcatcagcg tggctcgtgaa gcgattcaca 2880

gatgtctgcc tgitcatccg cgtccagctc gttgagttt tccagaagcg ttaatgtctg 2940

gcttctgata aagcgggcca tgttaagggc ggttttttcc tgtttggtca ctgatgcctc 3000

cgtgtaaggg ggatttctgt tcatgggggt aatgataccg atgaaacgag agaggatgct 3060

cacgataccg gttactgatg atgaacatgc ccggttactg gaacgtttgt agggtaaaca 3120

actggcggta tggatgcggc gggaccagag aaaaatcact cagggtcaat gccagcgtt 3180

cgttaataca gatgtaggtg ttccacaggg tagccagcag catcctgcga tgcagatccg 3240

gaacataatg gtgcaggcgc ctgacttccg cgtttccaga ctttacgaaa cacggaaacc 3300

gaagaccatt catgttgttg ctcaggctgc agacgttttg cagcagcagt cgcttcacgt 3360

tcgctcgcgt atcggtgatt cattctgctc accagtaagg caaccccgcc agcctagccg 3420

ggtcctcaac gacaggagca cgatcatcgc caccctggg gccgccatgc cggcgataat 3480

ggcctgcttc tcgccgaaac gtttgggtgc gggaccagtg acgaaggctt gagcgagggc 3540

gtgcaagatt ccgaataacc caagcgacag gccgatcatc gtcgcgctcc agcgaaagcg 3600

gtcctcgccg aaaaatgacc agagcgtgc cggcacctgt cctacgagtt gcatgataaa 3660

gaagacagtc ataagtgcgg cgacgatagt catgccccgc gccaccgga aggagctgac 3720

tgggttgaag gctctcaagg gcatcggctg agatcccgtt gcctaagtag tgagctaact 3780

tacattaatt gcgttgcgct cactgccccg tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct 3840

gcattaatga atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gccagggtgg 3900

tttttcttt caccagtgag acgggcaaca gctgattgcc cttcacgcc tggccctgag 3960

agagttgcag caagcggctc acgtggttt gccccagcag gcgaaaatcc tgtttgatgg 4020

tggttaacgg cgggatataa catgagctgt cttcggtatc gtcgtatccc actaccgaga 4080

tatccgcacc aacgcgcagc ccggactcgg taatggcgcg cattgcgccc agcgcctct 4140

gatcgttggc aaccagcatc gcagtgggaa cgatgccctc attcagcatt tgcattggttt 4200
gttgaaaacc ggacatggca ctccagtcgc cttcccgttc cgctatcggc tgaatttgat 4260
tgcgagttag atatttatgc cagccagcca gacgcagacg cgccgagaca gaacttaatg 4320
ggcccgctaa cagcgcgatt tgctggtagac ccaatgcgac cagatgctcc acgcccagtc 4380
gcgtaccgtc ttcattggag aaaataatac tgttgatggg tgtctggtca gagacatcaa 4440
gaaataacgc cggaacatta gtgcaggcag cttccacagc aatggcatcc tggteatcca 4500
gcggatagtt aatgatcagc ccaatgacgc gttgcgcgag aagattgtgc accgccgctt 4560

tacaggcttc gacgccgctt cgttctacca tcgacaccac cacgctggca cccagttgat 4620
cggcgcgaga tttaatcggc gcgacaattt gcgacggcgc gtgcagggcc agactggagg 4680
tggcaacgcc aatcagcaac gactgtttgc ccgccagttg ttgtgccacg cggttgggaa 4740
tgaattcag ctccgccatc gcccttcca ctttttccg cgttttcgca gaaacgtggc 4800
tggcctggtt caccacgagg gaaacggctc gataagagac accggcatac tctgcgacat 4860
cgtataacgt tactggtttc acattacca cctgaattg actctctcc gggcgtatc 4920
atgccatacc gcgaaagggt ttgcgccatt cgatgggtgc cgggatctcg acgctctccc 4980

ttatgcgact cctgcattag gaagcagccc agtagtaggt tgaggccgtt gagcaccgcc 5040
gccgcaagga atggtgcatg caaggagatg gcgccaaca gtccccggc cacggggcct 5100
gccaccatac ccacgccgaa acaagcgtc atgagcccga agtggcggc cggatcttcc 5160
ccatcggtag tctcggcgat ataggcgcca gcaaccgac ctgtggcgcc ggtgatgccg 5220
gccacgatgc gtccggcgta gaggatcgag atctcgatcc cgcgaaatta atacgactca 5280
ctataggaat tctgagcggg taacaattcc cctctagaaa taattttgtt taactttaag 5340
aaggagatat accatgtcaa ccgatatgaa gaattatcg attggcgtgg acgtcgggga 5400

tcgcagcgtg ggettggcag cgattgagtt cgacgacgac gggetgccga ttcagaaact 5460
ggcattagtt acctttcgtc atgacggtgg cctcgacca accaagaaca aaacgcctat 5520
gtcgcgcaaa gagaccgcg ggatcgcgcg ccgcaccatg cgtatgaatc gcgaacgcaa 5580
acgccgcctt cgcaatttgg acaacgtact ggagaactta ggctatagcg tacctgaggg 5640
acctgaaccg gaaacttacg aagcctggac gagccgcgca ctcttgcaa gcattaaatt 5700
agcatccgcc gacgaattaa acgaacacct ggttcgtgcc gttcgccaca tggcgcgcca 5760
tcgggctgg gcaaacccct ggtggagcct ggatcaactc gaaaaggcat cacaagaacc 5820

cagcgaacc ttcgaaatca tcttagcacg cgcacgcgaa ttattcggcg agaaagtacc 5880
agcgaacccc accttggga tgctgggagc gctggcggca aacaacgaag tgctgctcgg 5940
cccacgtgac gagaagaaac gcaaacggg atacgtacgt ggaacgccgt tgatgttcgc 6000

acaagtgcgc caaggcgatc aattagccga attacgccgc atctgtgaag tacaaggcat 6060
cgaagatcaa tatgaagcgc tgcgtctggg tgtctttgat cacaacatc cgtacgtccc 6120
aaaagagcgc gttggcaaag atccgttgaa cccgagcacc aaccgtacca tccgcgcaag 6180
ccttgaattc caagaatttc gtatcttaga cagtgttgcc aatctccgcg ttcgtatcgg 6240

cagtgcgcc aaacgcgaac tcaccgaagc ggaatacgac gcagcggtag aatttctgat 6300
ggattacgcg gacaaagagc agcctagtig ggcggacgtg gcggaaga tccgggtgcc 6360
gggcaatcgt ctggtagccc ccgtcttaga agacgtacaa cagaaaacag cccttacga 6420
tcgttcttct gcggcgttcg aaaaggctat ggggaagaaa actgaagccc gccaatggtg 6480
ggagtgcagc gacgacgac aactgcgcag ccttctgac gcgttcttgg tggacgccac 6540
taatgacacc gaggaagctg ccgcggaagc cggattaagc gaattgtaca aatcctggcc 6600
cgcggaagag cgcgaggctt taagcaatat cgacttcgaa aagggtcgcg tggcgtactc 6660

acaagaaca ctgtccaagt taagtgaata tatgcacgaa tatcgcgtcg ggctgcatga 6720
agcacgtaaa gcagtatttg gggttgacga cacgtggcgc ccacctctgg acaaattaga 6780
agagcctacc ggacaacctg cagtagaccg tgcctcacc atcttacgcc gettctgatt 6840
ggactgcgaa cgccaatggg gtcgcctcgc tgccatcacc gtagagcaca ctgcactgg 6900
tcttatgggc ccgactcaac gccaaaagat ctgtaacgaa caaaagaaga atcgcgcaga 6960
caacgaacgc atccgtgacg aactgcgcga aagcggagtt gacaacccaa gtcgtgctga 7020
ggtgcgccgt cacttaatcg ttcaagaaca agaatgcaa tgtctgtatt gtggtacat 7080

gatcacaact accaccagcg aactcgacca catcgtacca cgcgcaggcg gtggcagcag 7140
ccgcccgcaa aacttgccg ccgtatgtcg gcctgcaac gcaaagaaga aacgcgagtt 7200
gttttacgcc tggcggggac cggtaaatc ccaagaaca atcgaacgcg tgcgtcaact 7260
gaaagcattc aaagactcaa agaaagctaa gatgtttaag aaccaaatcc gccgcctgaa 7320
ccaacagaa gcggacgaac ctatcgacga acgctctctc gcgagcacca gctacgtgc 7380
cgttgccgtc cgcgaacgt tagagcaaca ttcaacgaa ggactggccc tcgatgaaa 7440
atcacgtgtc gtttagacg tgtatgcggg cgcggtcacc cgcgaaagtc gtcgcgccgg 7500

cggcatcgat gaacgcaccc tgttgcgtgg cgaacgtgac aagaatcgct tcgacgttcg 7560
tcacatgcc gtggacgcg 7579

<210> 106
<211> 2356
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: plasmid

<220><223> Description: PAM library U67/U40 plasmid

<220><221> modified_base

<222> (2277)..(2284)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 106

```

aatttaagcc agccccgaca cccgccaaca cccgctgacg cgcctgacg ggcttgtctg      60

ctccccgcat ccgcttacag acaagctgtg accgtctccg ggagctgcat gtgtcagagg      120
ttttcacctg catcaccgaa acgcgcgaga cgaaggggcc tcgtgatacg cctatTTTTA      180
taggttaatg tcatgataat aatggtttct tagacgtcag gtggcacttt tcggggaaat      240
gtgcgcgaa cccctatttg tttatTTTTc taatacatt caaatatgta tccgctcatg      300
agacaataac cctgataaat gcttcaataa tattgaaaaa ggaagagtat gagccatatt      360
caacgggaaa cgtcttgctc taggccgca ttaaattcca acatggatgc tgatttatat      420
gggtataaat ggctcgcga taatgtcggg caatcaggtg cgacaatcta tcgattgtat      480

gggaagcccc atgcgccaga gttgtttctg aaacatggca aaggtagcgt tgccaatgat      540
gttacagatg agatggctag actaaactgg ctgacggaat ttatgcctct tccgaccatc      600
aagcatttta tccgtactcc tgatgatgca tggttactca ccaactgcgat ccccgggaaa      660
acagcattcc aggtattaga agaatatcct gattcaggtg aaaatattgt tgatgcgctg      720
gcagtgttcc tgcgccggtt gcattcgatt cctgtttga attgtccttt taacagcgat      780
cgcgtatttc gtctcgtca ggcgcaatca cgaatgaata acggtttggt tgatgcgagt      840
gattttgatg acgagcgtaa tggctggcct gttgaacaag tctggaaaga aatgcataaa      900

cttttgccat tctcaccgga ttcagtcgtc actcatggtg atttctcact tgataacctt      960
atTTTTgacg aggggaaatt aataggttgt attgatgttg gacgagtcgg aatcgcagac     1020
cgataaccagg atcttgccat cctatggaac tgctcgggtg agTTTTctcc tcattacag     1080
aaacggcttt ttcaaaaata tggattgat aatcctgata tgaataaatt gcagtttcat     1140
ttgatgctcg atgagTTTT ctaactgtca gaccaagttt actcatatat actttagatt     1200
gatttaaac ttcatTTTT atttaaaagg atctaggtga agatcctttt tgataatctc     1260
atgacaaaaa tccctaacg tgagTTTTcg ttccactgag cgtcagaccc cgtagaaaag     1320

atcaaaggat ctcttgaga tctTTTTTT ctgcgcgtaa tctgctgctt gcaaacaaaa     1380

```

aaaccaccgc taccagcggg ggtttgtttg ccgatcaag agctaccaac tctttttccg 1440
aaggtaaactg gcttcagcag agcgcagata ccaataactg tcttcttagt gtagccgtag 1500
ttaggccacc acttcaagaa ctctgtagca ccgctacat acctcgctct gctaatcctg 1560
ttaccagtgg ctgctgccag tggcgataag tcgtgtctta ccgggttggg ctcaagacga 1620
tagttaccgg ataaggcgca gcggtcgggc tgaacggggg gttcgtgcac acagcccagc 1680
ttggagcgaa cgacctacac cgaactgaga tacctacagc gtgagctatg agaaagcgcc 1740

acgcttcccg aaggagaaaa ggcggacagg tatccggtaa gcggcagggt cggaacagga 1800
gagcgcacga gggagcttcc aggggggaaac gcctggtatc tttatagtcc tgtcgggttt 1860
cgccacctct gacttgagcg tcgatttttg tgatgctcgt caggggggcg gacccatgg 1920
aaaaaccca gcaacgcggc ctttttacgg ttcttgccct tttgctggcc tttgctcac 1980
atgttcttcc ctgcgttacc cctgattct gtggataacc gtattaccgc ctttgagtga 2040
gctgataccg ctgcccag ccgaacgacc gagcgcagcg agtcagttag cgaggaagcg 2100
gaagagcgcc caatacgcaa accgcctctc cccgcgcgtt ggccgattca ttaatgcagc 2160

tggcagcaca ggtttcccga ctggaattc attaaaaatt gaattgacat taacctataa 2220
aaataggcgt cgaggccctt tcgtcttccg tgagccacca cgtcgaagc ctcgacnnn 2280
nnnntggaga tatcttgaac cttgcatccc cggaagagag tcaatcccgg aagagagtca 2340
attcagggtg gtgaat 2356

<210> 107

<211> 2801

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: plasmid

<220><223> Description: pMG010 plasmid

<400> 107

gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 60
aataaccctg ataatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 120
tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgcgg cattttgctt tcctgttttt gctcaccag 180
aaacgctggg gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagt ggttacatcg 240
aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgaagaa cgttttccaa 300
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc 360

aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctcagaatga cttggttgag tactcaccag 420

tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 480
ccatgagtga taacactcgc gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 540
taaccgcttt ttigcacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg 600
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 660
caacgttcgc caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 720
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg 780
gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag 840

cactggggcc agatggtaag ccctcccgia tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 900
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 960
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tactttagat tgatttaaaa cttcattttt 1020
aatttaaaag gatctaggtag aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccctaac 1080
gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 1140
atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 1200
tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 1260

gagcgcagat accaaatact gttcttctag tftagccgta gttaggccac cacttcaaga 1320
actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaactct gttaccagtg gctgctgcca 1380
gtggcgataa gtctgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 1440
agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 1500
ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaaa 1560
aggcggacag gtatccgcta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 1620
cagggggaaa cgcttggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 1680

gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 1740
ccttttttac gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 1800
ccctgattc tgggataaac cgtattaccg cttttgagtg agctgatacc gctcgcgca 1860
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcaatga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 1920
aacgcctct ccccgcgctg tggccgattc ataatgcag ctggcacgac aggtttcccg 1980
actgaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac 2040
cccagcttt acactttatg cttccggctc gtatgttggtg tggaattgtg agcggataac 2100

aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg attacgccaa gcttgcacgc ctgcaggtcg 2160
 actctagagg atcccttgaa gactaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2220
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2280
 aaaaaaaaaa aagaagagca agtcccgaat tcaactggccg tcgttttaca acgtcgtgac 2340
 tgggaaaacc ctggcgttac ccaacttaat cgccttgcag cacatcccc tttgccagc 2400
 tggcgtaata gcgaagaggc ccgcaccgat cgccttccc aacagttgcg cagcctgaat 2460
 ggcgaaatggc gcctgatgcg gtattttctc cttacgcac tgtgctggtat ttcacaccgc 2520

atatggtgca ctctcagtac aatctgctct gatgccgat agttaagcca gccccgacac 2580
 ccgccaacac ccgtgacgc gccctgacgg gcttgtctgc tcccggcac cgcttacaga 2640
 caagctgtga ccgtctccgg gagctgcatg tgcagaggc tttaccgctc atcaccgaaa 2700
 cgcgcgagac gaaagggcct cgtgatacgc ctatTTTTAT aggttaatgt catgataata 2760
 atggtttctt agacgtcagg tggcactttt cggggaaatg t 2801

<210> 108

<211> 3773

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 containing 5'UTR, NLS, CDS, NLS,
 3'UTR, polyA tail

<220><223> Description: MG3-6/3-4 mRNA

<400> 108

aaaagccagc tccagcagc gctgctcact cctccccatc ctctccctct gtccctctgt 60
 ccctctgacc ctgcactgct ccagcacat ggcccccaag aagaagcgga aagttggcgg 120
 cggagcagc tccacggata tgaagaacta caggatcggg gtcgatgtgg gagaccgctc 180
 cgtgggactc gccccatcg aatttgatga tgatggcttg cccatccaaa agctagctct 240
 cgtgactttc cgacacgatg gcgggctaga tcctacaaag aataagactc ccatgagccg 300

 gaaggaaca agaggtattg caagacggac gatgaggatg aaccgggaga gaaagcggcg 360
 tctgcgaaac ctggataatg tccttgaaaa tctgggatac tcagtcccag aaggcccaga 420
 gccagagacc tatgaggcat ggacctcag ggcctgctg gcttccatca agctggctag 480
 cgctgatgag ctgaatgagc atttggtgcg ggctgtgcca catatggcta ggcacagagg 540
 atggcgcaat ccttgggtgt ccctcgacca gctggagaaa gccagccagg agccttctga 600

gacatttgag attatacttg ctagggctcg agagctgttt ggtgaaaagg ttcttgccaa 660
tcctactctg ggtatgctcg ggccttggc agccaataat gaggttctcc tgcgaccgag 720

agatgaaaag aagaggaaga caggetatgt gcgagggact cctctgatgt ttgcgcaggt 780
ccgtcaggtg gaccagcttg ctgagctgcg acggatttgc gaggtgcagg gaattgagga 840
ccagtacgag gccctcagac ttgggggtgt cgaccataag caccctatg tgcccaagga 900
aagagtgggg aaggaccccc tcaatccatc tacaataaga acgatacggg ctagtttgga 960
gtttcaggag ttcaggatac tggattctgt agctaacctt aggttacgga ttgggtctcg 1020
tgcaagcgg gagctgactg aggcagagta tgatgccgct gttgagttcc taatggacta 1080
tgctgataag gaacaacat cctgggctga tgttgctgag aaaataggcg tccccggaa 1140

ccggttggtc gtcctgtgc tcgaggatgt ccagcaaaag accgctccat atgaccgctc 1200
cagcgtgctt ttcagaaaag caatgggcaa gaagaccgag gctcggcagt ggtgggaatc 1260
tacagatgat gaccagctta gatctctgct tattgcattt cttglagatg caacaacga 1320
tacagaagag gcggcggctg aggcaggcct ttcagagcta tataagtctt ggccctgcaga 1380
ggaacgagaa gcaactaagta acattgattt cgagaaaagg agggttgcct attctcagga 1440
gacctgtca aaactaagcg agtacatgca tgagtaccgt gtgggactcc acgaggctag 1500
gaaggccgtg ttcggcgtag atgatacctg gcgaccgccg ttggataagc tggagaacc 1560

cactggccag ccggctgtgg atcgcgtgct aactatactg aggcggtttg tcctggattg 1620
tgagaggcag tggggtcgtc cccgagcaat aacagtggaa cataccagga ccggcttgat 1680
gggacctacc cagaggcaga aaattctgaa tgagcagaag aagaaccgag ctgataatga 1740
gcggattcgc gatgagctac gggagtctgg cgtggataat ccttctcggg ccgaagtacg 1800
gcggcatttg attgtacagg agcaggagtg tcagtgtctg tactcggca ctatgattac 1860
gaccacaaca tcagagetgg atcatattgt gccagggct ggggggggat cttcccgaag 1920
ggagaatctg gcagctgttt gcagagcttg taatgccaag aagaagagag aactcttcta 1980

tgcatgggct ggcccagtta agtctcagga gaccattgag agagttagac agcttaaggc 2040
ctttaaggat tcaagaagg ccaaaatgtt caagaatcag attaggcgat tgaatcagac 2100
cgaggccgat gagccattg atgagcggtc cctggcatca acaagttafg ccgctgtggc 2160
tgtgcgagag agactagaac agcactttaa tgagggcctc gcgctggacg ataagagccg 2220
ggtggtgctt gatgtctacg ctggggccgt gacacgggag tccaggcggg caggtggtat 2280
tgacgagagg attctgctgc ggggagagcg agataagaac cgatttgatg tccgacatca 2340

cgcggtcgat gccgcagtca tgactttgct taataggagc gtcgcactca cccttgagca 2400

gagaagccag ctacgcaggg ctttctatga gctggagcta gataaacttg accgagatca 2460

gcttaagccc ggcgaagatt ggcggaactt tacgggctc tacgaggcaa gccagaataa 2520

gttctcagag tggagaaggg ccgctacagt actcggggat ctactcgctg aagccattga 2580

ggatgatgcc attgctgtcg tgagccctct gcgattgagg ccgcagaatg gcagcgtcca 2640

cgatgacaca attaatgcgg ttaagaagct gactttgggg tccgcatggc cagccgatgc 2700

cgtgaagagg atagttgac cagagatata cttggcaatg aaggacgtcc taggaaaact 2760

aaaggagcta cccgaggata gcgcaaggtc cttggagctc tctgatggca ggtacataga 2820

ggctgatgat gagtttctgt tcttcctaa gaaggcagct tccatactga ctccaagagg 2880

cgctgcagag ataggaatt ctatacatca tgcccgcctt tattcttggc tgaccaagaa 2940

gggagaattg aagtccgaa tgctccgagt gtatggggcg gaggctccgt ggctcatgcg 3000

ggaatccggt tccagagatg ttctccatat gcctattcat ccaggaagtc agtcattccg 3060

cgcatgacag gatggggttc gaaaggcagt agagagcggc gaagctgtgg agtttgatg 3120

gattaccag gatgatgagt tggagtttga tctgaagac tacattgctc acggcggcga 3180

tgatgagctt aataggctac ttagagtaat gcctgagaga aggtggcggg tcgatggctt 3240

ctataatgcc ggaacgctta ggattagacc agcacttctc tctgcggagc agctgccttc 3300

agagctccag aagaaggtgg cagataagac tctgagtac gttgagctta ttctgctgcg 3360

cgccgtacag cgtgggttgt ttgttgctat aagtagcttt ctcctctgg agaccctgaa 3420

ggttataagg cggaataact tgggcttccc aagatggcgg ggaaacggaa atttccaac 3480

atctttcag gtcaggagca gtgctctcag ggctctcggg gttgaaggat ctggcggaaa 3540

aagacctgcc gccacaaaga aagccggaca ggccaagaaa aagaagtac cacacccca 3600

ttccccact ccagatagaa cttcagttat atctcacgtg tctggagtgg gatccctga 3660

agactaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa 3720

aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaa 3773

<210> 109

<211> 1279

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MG29 chimeric effectors

<220><223> Description: MG29-1_29-5 chimera

<400> 109

Met Phe Asn Asn Phe Ile Lys Lys Tyr Ser Leu Gln Lys Thr Leu Arg
 1 5 10 15

Phe Glu Leu Lys Pro Val Gly Glu Thr Ala Asp Tyr Ile Glu Asp Phe
 20 25 30

Lys Ser Glu Tyr Leu Lys Asp Thr Val Leu Lys Asp Glu Gln Arg Ala
 35 40 45

Lys Asp Tyr Gln Glu Ile Lys Thr Leu Ile Asp Asp Tyr His Arg Glu
 50 55 60

Tyr Ile Glu Glu Cys Leu Arg Glu Pro Val Asp Lys Lys Thr Gly Glu
 65 70 75 80

Ile Leu Asp Phe Thr Gln Asp Leu Glu Asp Ala Phe Ser Tyr Tyr Gln
 85 90 95

Lys Leu Lys Glu Asn Pro Thr Glu Asn Arg Val Gly Trp Glu Lys Glu
 100 105 110

Gln Glu Ser Leu Arg Lys Lys Leu Val Thr Ser Phe Val Gly Asn Asp
 115 120 125

Gly Leu Phe Lys Lys Glu Phe Ile Thr Arg Asp Leu Pro Glu Trp Leu
 130 135 140

Gln Lys Lys Gly Leu Trp Gly Glu Tyr Lys Asp Thr Val Glu Asn Phe
 145 150 155 160

Lys Lys Phe Thr Thr Tyr Phe Ser Gly Phe His Glu Asn Arg Lys Asn
 165 170 175

Met Tyr Thr Ala Glu Ala Gln Ser Thr Ala Ile Ala Asn Arg Leu Met
 180 185 190

Asn Asp Asn Leu Pro Lys Phe Phe Asn Asn Tyr Leu Ala Tyr Gln Thr
 195 200 205

Ile Lys Glu Lys His Pro Asp Leu Val Phe Arg Leu Asp Asp Ala Leu
 210 215 220

Leu Gln Ala Ala Gly Val Glu His Leu Asp Glu Ala Phe Gln Pro Arg

225 230 235 240
 Tyr Phe Ser Arg Leu Phe Ala Gln Ser Gly Ile Thr Ala Phe Asn Glu
 245 250 255
 Leu Ile Gly Gly Arg Thr Thr Glu Asn Gly Glu Lys Ile Gln Gly Leu
 260 265 270

 Asn Glu Gln Ile Asn Leu Tyr Arg Gln Gln Asn Pro Glu Lys Ala Lys
 275 280 285
 Gly Phe Pro Arg Phe Met Pro Leu Phe Lys Gln Ile Leu Ser Asp Arg
 290 295 300
 Glu Thr His Ser Phe Leu Pro Asp Ala Phe Glu Asn Asp Lys Glu Leu
 305 310 315 320
 Leu Gln Ala Leu Arg Asp Tyr Val Asp Ala Ala Thr Ser Glu Glu Gly
 325 330 335

 Met Ile Ser Gln Leu Asn Lys Ala Met Asn Gln Phe Val Thr Ala Asp
 340 345 350
 Leu Lys Arg Val Tyr Ile Lys Ser Ala Ala Leu Thr Ser Leu Ser Gln
 355 360 365
 Glu Leu Phe His Phe Phe Gly Val Ile Ser Asp Ala Ile Ala Trp Tyr
 370 375 380
 Ala Glu Lys Arg Leu Ser Pro Lys Lys Ala Gln Glu Ser Phe Leu Lys
 385 390 395 400

 Gln Glu Val Tyr Ala Ile Glu Glu Leu Asn Gln Ala Val Val Gly Tyr
 405 410 415
 Ile Asp Gln Leu Glu Asp Gln Ser Glu Leu Gln Gln Leu Leu Val Asp
 420 425 430
 Leu Pro Asp Pro Gln Lys Pro Val Ser Ser Phe Ile Leu Thr His Trp
 435 440 445
 Gln Lys Ser Gln Glu Pro Leu Gln Ala Val Ile Ala Lys Val Glu Pro
 450 455 460

 Leu Phe Glu Leu Glu Glu Leu Ser Lys Asn Lys Arg Ala Pro Lys His
 465 470 475 480

Asp Lys Asp Gln Gly Gly Glu Gly Phe Gln Gln Val Asp Ala Ile Lys
 485 490 495
 Asn Met Leu Asp Ala Phe Met Glu Val Ser His Ala Ile Lys Pro Leu
 500 505 510
 Tyr Leu Val Lys Gly Arg Lys Ala Ile Asp Met Pro Asp Val Asp Thr
 515 520 525

 Gly Phe Tyr Ala Asp Phe Ala Glu Ala Tyr Ser Ala Tyr Glu Gln Val
 530 535 540
 Thr Val Ser Leu Tyr Asn Lys Thr Arg Asn His Leu Ser Lys Lys Pro
 545 550 555 560
 Tyr Lys Arg Asp Lys Ile Lys Leu Asn Phe Glu Ala Pro Thr Leu Leu
 565 570 575
 Asn Gly Trp Asp Leu Asn Lys Glu Arg Ala Asn Arg Ser Val Leu Leu
 580 585 590

 Leu Lys Asn Gly Asn Tyr Tyr Leu Ala Ile Met His Pro Asn His Thr
 595 600 605
 Asp Ile Phe Lys Lys Tyr Met Glu Met Asp Asn Ser Asp Asn Tyr Glu
 610 615 620
 Lys Ile Asn Tyr Lys Leu Ile Ser Asp Ala Asn Arg Met Leu Pro Arg
 625 630 635 640
 Val Phe Phe Ser Lys Lys Gly Ile Lys Thr Tyr Asp Pro Pro Lys Ser
 645 650 655

 Ile Leu Glu Leu Tyr Lys Lys Gly Glu His Ile Lys Gly Pro Ser Phe
 660 665 670
 Lys Leu Glu Ser Leu His Arg Leu Ile Asp Tyr Phe Lys Ser Val Val
 675 680 685
 Ser Lys Tyr Lys Ala Asp Pro Gly Asp Gln Tyr Gly Trp Glu Val Phe
 690 695 700
 Asp Phe Lys Phe Ser Pro Thr Ser Gln Tyr Glu Asp Ile Gly Gln Phe
 705 710 715 720

 Tyr Lys Glu Leu Glu Lys Gln Ala Tyr Arg Val Trp Phe Thr Pro Ile

	725	730	735
Ser Ser Thr Tyr Ile Glu Glu Ala Ala Lys His Gly Lys Leu Phe Leu			
	740	745	750
Phe Gln Ile Tyr Asn Lys Asp Phe Ser Pro Tyr Ala Lys Gly Arg Pro			
	755	760	765
Asn Leu His Thr Leu Tyr Trp Lys Ser Leu Phe Glu Lys Glu Asn Leu			
	770	775	780
Gln Asp Val Ile Thr Lys Leu Asn Gly Glu Ala Glu Ile Phe Phe Arg			
785	790	795	800
His His Ser Ile Lys Lys Ala Asp Thr Val Ile His Lys Ala Gly Glu			
	805	810	815
Thr Ile Lys Asn Lys Asn Glu Asn Asn Pro Lys Gln Glu Ser Thr Phe			
	820	825	830
Lys His Asp Ile Ile Lys Asp Arg Arg Tyr Thr Val Asp Lys Ile Leu			
	835	840	845
Phe His Val Pro Ile Thr Ile Asn Phe Lys Asn Asp Lys Val Val Arg			
	850	855	860
Phe Asn Asp Lys Ile Asn Gly Leu Leu Ala Ala Gln Asp Asp Val His			
865	870	875	880
Val Ile Gly Ile Asp Arg Gly Glu Arg His Leu Leu Tyr Tyr Thr Val			
	885	890	895
Val Asn Gly Lys Gly Glu Val Val Glu Gln Gly Ser Leu Asn Gln Val			
	900	905	910
Ala Thr Asp Gln Gly Tyr Val Val Asp Tyr Gln Gln Lys Leu His Ala			
	915	920	925
Lys Glu Lys Glu Arg Asp Gln Ala Arg Lys Asn Trp Ser Thr Ile Glu			
	930	935	940
Asn Ile Lys Glu Leu Lys Ala Gly Tyr Leu Ser Gln Val Val His Lys			
945	950	955	960
Leu Ala Gln Leu Ile Val Lys His Asn Ala Ile Val Cys Leu Glu Asp			
	965	970	975

Leu Asn Phe Gly Phe Lys Arg Gly Arg Phe Lys Val Glu Lys Gln Val
 980 985 990
 Tyr Gln Lys Phe Glu Lys Ala Leu Ile Asp Lys Leu Asn Tyr Leu Val
 995 1000 1005
 Phe Lys Glu Arg Gly Ala Thr Gln Ala Gly Gly Tyr Leu Asn Ala
 1010 1015 1020
 Tyr Gln Leu Ala Ala Pro Phe Glu Ser Phe Glu Lys Leu Gly Lys
 1025 1030 1035

 Gln Thr Gly Ile Leu Tyr Tyr Val Arg Ser Asp Tyr Thr Ser Lys
 1040 1045 1050
 Ile Asp Pro Ala Thr Gly Phe Val Asp Phe Leu Lys Pro Lys Tyr
 1055 1060 1065
 Glu Ser Met Ala Lys Ser Lys Val Phe Phe Glu Ser Phe Glu Arg
 1070 1075 1080
 Ile Gln Trp Asn Gln Ala Lys Gly Tyr Phe Glu Phe Glu Phe Asp
 1085 1090 1095

 Tyr Lys Lys Met Cys Pro Ser Arg Lys Phe Gly Asp Tyr Arg Thr
 1100 1105 1110
 Arg Trp Val Val Cys Thr Phe Gly Asp Thr Arg Tyr Gln Asn Arg
 1115 1120 1125
 Arg Asn Lys Ser Ser Gly Gln Trp Glu Thr Glu Thr Ile Asp Val
 1130 1135 1140
 Thr Ala Gln Leu Lys Ala Leu Phe Ala Ala Tyr Gly Ile Thr Tyr
 1145 1150 1155

 Asn Gln Glu Asp Asn Ile Lys Asp Ala Ile Ala Ala Val Lys Tyr
 1160 1165 1170
 Thr Lys Phe Tyr Lys Gln Leu Tyr Trp Leu Leu Arg Leu Thr Leu
 1175 1180 1185
 Ser Leu Arg His Ser Val Thr Gly Thr Asp Glu Asp Phe Ile Leu
 1190 1195 1200
 Ser Pro Val Ala Asp Glu Asn Gly Val Phe Phe Asp Ser Arg Lys

1205 1210 1215

Ala Thr Asp Lys Gln Pro Lys Asp Ala Asp Ala Asn Gly Ala Tyr

1220 1225 1230

His Ile Ala Leu Lys Gly Leu Trp Asn Leu Gln Gln Ile Arg Gln

1235 1240 1245

His Asp Trp Asn Val Glu Lys Pro Lys Lys Leu Asn Leu Ala Met

1250 1255 1260

Lys Asn Glu Glu Trp Phe Gly Phe Ala Gln Lys Lys Lys Phe Arg

1265 1270 1275

Ala

<210> 110

<211> 1291

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><223> Category: MG29 chimeric effectors

<220><223> Description: MG29-1_57-1 chimera

<400> 110

Met Phe Asn Asn Phe Ile Lys Lys Tyr Ser Leu Gln Lys Thr Leu Arg

1 5 10 15

Phe Glu Leu Lys Pro Val Gly Glu Thr Ala Asp Tyr Ile Glu Asp Phe

20 25 30

Lys Ser Glu Tyr Leu Lys Asp Thr Val Leu Lys Asp Glu Gln Arg Ala

35 40 45

Lys Asp Tyr Gln Glu Ile Lys Thr Leu Ile Asp Asp Tyr His Arg Glu

50 55 60

Tyr Ile Glu Glu Cys Leu Arg Glu Pro Val Asp Lys Lys Thr Gly Glu

65 70 75 80

Ile Leu Asp Phe Thr Gln Asp Leu Glu Asp Ala Phe Ser Tyr Tyr Gln

85 90 95

Lys Leu Lys Glu Asn Pro Thr Glu Asn Arg Val Gly Trp Glu Lys Glu

100 105 110

Gln Glu Ser Leu Arg Lys Lys Leu Val Thr Ser Phe Val Gly Asn Asp

115 120 125

Gly Leu Phe Lys Lys Glu Phe Ile Thr Arg Asp Leu Pro Glu Trp Leu

130 135 140

Gln Lys Lys Gly Leu Trp Gly Glu Tyr Lys Asp Thr Val Glu Asn Phe

145 150 155 160

Lys Lys Phe Thr Thr Tyr Phe Ser Gly Phe His Glu Asn Arg Lys Asn

165 170 175

Met Tyr Thr Ala Glu Ala Gln Ser Thr Ala Ile Ala Asn Arg Leu Met

180 185 190

Asn Asp Asn Leu Pro Lys Phe Phe Asn Asn Tyr Leu Ala Tyr Gln Thr

195 200 205

Ile Lys Glu Lys His Pro Asp Leu Val Phe Arg Leu Asp Asp Ala Leu

210 215 220

Leu Gln Ala Ala Gly Val Glu His Leu Asp Glu Ala Phe Gln Pro Arg

225 230 235 240

Tyr Phe Ser Arg Leu Phe Ala Gln Ser Gly Ile Thr Ala Phe Asn Glu

245 250 255

Leu Ile Gly Gly Arg Thr Thr Glu Asn Gly Glu Lys Ile Gln Gly Leu

260 265 270

Asn Glu Gln Ile Asn Leu Tyr Arg Gln Gln Asn Pro Glu Lys Ala Lys

275 280 285

Gly Phe Pro Arg Phe Met Pro Leu Phe Lys Gln Ile Leu Ser Asp Arg

290 295 300

Glu Thr His Ser Phe Leu Pro Asp Ala Phe Glu Asn Asp Lys Glu Leu

305 310 315 320

Leu Gln Ala Leu Arg Asp Tyr Val Asp Ala Ala Thr Ser Glu Glu Gly

325 330 335

Met Ile Ser Gln Leu Asn Lys Ala Met Asn Gln Phe Val Thr Ala Asp
 340 345 350

Leu Lys Arg Val Tyr Ile Lys Ser Ala Ala Leu Thr Ser Leu Ser Gln
 355 360 365

Glu Leu Phe His Phe Phe Gly Val Ile Ser Asp Ala Ile Ala Trp Tyr
 370 375 380

Ala Glu Lys Arg Leu Ser Pro Lys Lys Ala Gln Glu Ser Phe Leu Lys
 385 390 395 400

Gln Glu Val Tyr Ala Ile Glu Glu Leu Asn Gln Ala Val Val Gly Tyr
 405 410 415

Ile Asp Gln Leu Glu Asp Gln Ser Glu Leu Gln Gln Leu Leu Val Asp
 420 425 430

Leu Pro Asp Pro Gln Lys Pro Val Ser Ser Phe Ile Leu Thr His Trp
 435 440 445

Gln Lys Ser Gln Glu Pro Leu Gln Ala Val Ile Ala Lys Val Glu Pro
 450 455 460

Leu Phe Glu Leu Glu Glu Leu Ser Lys Asn Lys Arg Ala Pro Lys His
 465 470 475 480

Asp Lys Asp Gln Gly Gly Glu Gly Phe Gln Gln Val Asp Ala Ile Lys
 485 490 495

Asn Met Leu Asp Ala Phe Met Glu Val Ser His Ala Ile Lys Pro Leu
 500 505 510

Tyr Leu Val Lys Gly Arg Lys Ala Ile Asp Met Pro Asp Val Asp Thr
 515 520 525

Gly Phe Tyr Ala Asp Phe Ala Glu Ala Tyr Ser Ala Tyr Glu Gln Val
 530 535 540

Thr Val Ser Leu Tyr Asn Lys Thr Arg Asn His Leu Ser Lys Lys Pro
 545 550 555 560

Gln Asp Asp Val Lys Glu Asn Lys Leu Lys Leu Asn Phe Gly Asn Ser
 565 570 575

Ser Leu Leu Gly Gly Trp Ser Asp Gly Gln Glu Lys Thr Lys Ala Ala

Glu Glu Lys Ala Thr Ile Lys Asp Val Asn His Glu Ile Ile Lys Asp
 835 840 845

Lys Arg Phe Tyr Gly Asp Ser Gln Glu Pro Gln Tyr Met Phe His Cys
 850 855 860

Pro Ile Lys Leu Asn Tyr Lys Thr Lys Val Val Arg Phe Asn Asp Lys
 865 870 875 880

Ile Asn Gly Leu Leu Ala Ala Gln Asp Asp Val His Val Ile Gly Ile
 885 890 895

Asp Arg Gly Glu Arg His Leu Leu Tyr Tyr Thr Val Val Asn Gly Lys
 900 905 910

Gly Glu Val Val Glu Gln Gly Ser Leu Asn Gln Val Ala Thr Asp Gln
 915 920 925

Gly Tyr Val Val Asp Tyr Gln Gln Lys Leu His Ala Lys Glu Lys Glu
 930 935 940

Arg Asp Gln Ala Arg Lys Asn Trp Ser Thr Ile Glu Asn Ile Lys Glu
 945 950 955 960

Leu Lys Ala Gly Tyr Leu Ser Gln Val Val His Lys Leu Ala Gln Leu
 965 970 975

Ile Val Lys His Asn Ala Ile Val Cys Leu Glu Asp Leu Asn Phe Gly
 980 985 990

Phe Lys Arg Gly Arg Phe Lys Val Glu Lys Gln Val Tyr Gln Lys Phe
 995 1000 1005

Glu Lys Ala Leu Ile Asp Lys Leu Asn Tyr Leu Val Phe Lys Glu
 1010 1015 1020

Arg Gly Ala Thr Gln Ala Gly Gly Tyr Leu Asn Ala Tyr Gln Leu
 1025 1030 1035

Ala Ala Pro Phe Glu Ser Phe Glu Lys Leu Gly Lys Gln Thr Gly
 1040 1045 1050

Ile Leu Tyr Tyr Val Arg Ser Asp Tyr Thr Ser Lys Ile Asp Pro
 1055 1060 1065

Ala Thr Gly Phe Val Asp Phe Leu Lys Pro Lys Tyr Glu Ser Met

1070	1075	1080
Ala Lys Ser Lys Val Phe Phe	Glu Ser Phe Glu Arg	Ile Gln Trp
1085	1090	1095
Asn Gln Ala Lys Gly Tyr Phe	Glu Phe Glu Phe Asp	Tyr Lys Lys
1100	1105	1110
Met Cys Pro Ser Arg Lys Phe	Gly Asp Tyr Arg Thr	Arg Trp Val
1115	1120	1125
Val Cys Thr Phe Gly Asp Thr	Arg Tyr Gln Asn Arg	Arg Asn Lys
1130	1135	1140
Ser Ser Gly Gln Trp Glu Thr	Glu Thr Ile Asp Val	Thr Ala Gln
1145	1150	1155
Leu Lys Ala Leu Phe Ala Ala	Tyr Gly Ile Thr Tyr	Asn Gln Glu
1160	1165	1170
Asp Asn Ile Lys Asp Ala Ile	Ala Ala Val Lys Tyr	Thr Lys Phe
1175	1180	1185
Tyr Lys Gln Leu Tyr Trp Leu	Leu Arg Leu Thr Leu	Ser Leu Arg
1190	1195	1200
His Ser Val Thr Gly Thr Asp	Glu Asp Phe Ile Leu	Ser Pro Val
1205	1210	1215
Ala Asp Glu Asn Gly Val Phe	Phe Asp Ser Arg Lys	Ala Thr Asp
1220	1225	1230
Lys Gln Pro Lys Asp Ala Asp	Ala Asn Gly Ala Tyr	His Ile Ala
1235	1240	1245
Leu Lys Gly Leu Trp Asn Leu	Gln Gln Ile Arg Gln	His Asp Trp
1250	1255	1260
Asn Val Glu Lys Pro Lys Lys	Leu Asn Leu Ala Met	Lys Asn Glu
1265	1270	1275
Glu Trp Phe Gly Phe Ala Gln	Lys Lys Lys Phe Arg	Ala
1280	1285	1290

<210>

111

<211> 39

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: MG29 sgRNA
 <220><223> Description: MG29-1 sgRNA
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(39)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 111
 aatttctact gttgtagatn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 39
 <210> 112
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

 <220><223> Category: MG29 sgRNA
 <220><223> Description: MG29-5 sgRNA
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(39)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 112
 aatttctaca gttgtagatn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 39
 <210> 113
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: MG57 sgRNA
 <220><223> Description: MG57-1 sgRNA
 <220><221> modified_base
 <222> (20)..(39)

<223
 > a, c, t, g, unknown or other
 <400> 113
 aatttctact atcgtagatn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 39
 <210> 114
 <211> 4
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: MG29 PAM
 <220><223> Description: MG29-1 PAM
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 114
 ttttn 4
 <210> 115

 <211> 4
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: MG29 PAM
 <220><223> Description: MG29-5 PAM
 <220><221> modified_base
 <222> (4)..(4)
 <223> a, c, t, g, unknown or other
 <400> 115
 yyyn 4
 <210> 116
 <211> 2
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG57 PAM

<220><223> Description: MG57-1 PAM

<220><221> modified_base

<222> (2)..(2)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 116

yn

2

<210> 117

<211> 4

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: MG29 chimeric PAM

<220><223> Description: MG29-1_29-5 PAM

<220><221> modified_base

<222> (4)..(4)

<223>

> a, c, t, g, unknown or other

<400> 117

tyyn

4

<210> 118

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: primer

<220><223> Description: LA179 primer used for PCR in PAM enrichment assay

<220><221> modified_base

<222> (14)..(18)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 118
gctcttccga tctnnnngc agctggcacg acagg 35

<210> 119
<211> 110
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC A1

<400> 119
gccguguacc agcugagaga cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 120
<211> 110
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC B1

<400> 120
auucaccgau uuugauucuc aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 121
<211> 110
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC C1

<400> 121
 gauucugaug uguauaucac agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 122
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC D1

<400> 122
 aacagugcug uggccuggag caguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 123
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC E1

<400> 123
 ggcuggggaa gaaggugucu ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 124
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC F1

<400> 124
 guuuugucug ugauauacac auguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 125
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC G1

<400> 125
 uuacuuugug acacauuugu uuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 126
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC H1

<400> 126
 uuugacaca uuuguugag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 127
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC A2

<400> 127
 ugugacacau uuguuugaga auguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucgg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 128
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC B2

<400> 128
 auuuguuuga gaaucuuuuu cgguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucgg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 129
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC C2

<400> 129
 uuccugugau gucaagcugg ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucgg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 130
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC D2

<400> 130
 uccugugaug ucaagcuggu cgguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 131
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC E2

<400> 131
 gucaagcugg ucgagaaaag cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 132
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC F2

<400> 132
 agcuugacau cacaggaacu uuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 133
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC G2

<400> 133

gacaucacag gaacuuucua aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 134

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC H2

<400> 134

uuacagauac gaaccuaaac uuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 135

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC A3

<400> 135

aaaaccuguc agugauuggg uuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 136

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC B3
 <400> 136
 gauuggguuc cgaauccucc ucguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 137
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC C3
 <400> 137
 ggaacccaau cacugacagg uuguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 138
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRAC
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC D3
 <400> 138
 uugaaaguuu agguucguau cuguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 139
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC A1
 <400> 139
 gccgtgtacc agctgagaga ct 22
 <210> 140
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site

 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC B1
 <400> 140
 attcaccgat ttgattctc aa 22
 <210> 141
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC C1
 <400> 141
 gattctgatg tgtatatcac ag 22
 <210> 142
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC D1
 <400> 142

aacagtgctg tggcctggag ca 22

<210> 143

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC E1

<400> 143

ggctggggaa gaaggtgtct tc 22

<210> 144

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC F1

<400> 144

gttttgtctg tgatatacac at 22

<210> 145

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC G1

<400> 145

ttactttgtg acacatttgt tt 22

<210> 146

<211> 22

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC H1
 <400> 146
 ttgtgacaca tttgtttgag aa 22

<210> 147
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC A2
 <400> 147
 tgtgacacat tttgttgaga at 22

<210> 148
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site

 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC B2
 <400> 148
 atttgtttga gaatcaaaat cg 22

<210> 149
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC C2
 <400> 149
 ttctgtgat gtcaagctgg tc 22
 <210> 150
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC D2
 <400> 150
 tcctgtgatg tcaagctgg cg 22
 <210> 151
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC E2
 <400> 151
 gtcaagctgg tcgagaaaag ct 22
 <210> 152
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC F2

<400> 152
agcttgacat cacaggaact tt 22

<210> 153
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC G2

<400> 153
gacatcacag gaactttcta aa 22

<210> 154
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC H2

<400> 154
ttacagatac gaacctaac tt 22

<210> 155
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC A3

<400> 155
aaaacctgtc agtgattggg tt 22

<210> 156

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC B3
 <400> 156
 gattgggttc cgaatcctcc tc 22
 <210> 157
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC C3
 <400> 157
 ggaaccaat cactgacagg tt 22
 <210> 158
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRAC target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRAC D3
 <400> 158
 ttgaaagttt aggttcgtat ct 22
 <210> 159
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M A1

<400> 159

ucacgcugga uagccuccag gcguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 160

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M B1

<400> 160

gguuuacuca cgucauccag caguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 161

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M C1

<400> 161

acucacguca uccagcagag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 162

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M D1

<400> 162

ucauccagca gagaauaggaa agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 163

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M E1

<400> 163

agagaauaggaa aagucaaaau ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 164

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M F1

<400> 164

cgacauugaa guugacuuac ugguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 165

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M G1

<400> 165

uugacuuacu gaagaugga gaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 166

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M H1

<400> 166

uuacugaaga auggagagag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 167

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M A2

<400> 167

uacugaaga uggagagaga auguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 168

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M B2

<400> 168

acugaagaau ggagagagaa uuguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 169

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M C2

<400> 169

ucuuucuauc ucuuguacua caguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 170

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M D2

<400> 170

uacuacacug aaucacccc caguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 171

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M E2

<400> 171

acuacacuga auucaccccc acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 172

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M F2

<400> 172

cuacacugaa uucaccccca cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 173

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M G2

<400> 173

auacucaucu uuuucagugg gggguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 174

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M H2

<400> 174

gaaucagug uaguacaaga gaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 175

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M A3

<400> 175

gagauagaaa gaccaguccu ugguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 176

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M B3

<400> 176

caguccuugc ugaagacaa guguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 177

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M C3

<400> 177

agucaacuuc aaugucggau ggguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 178

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M D3

<400> 178

aaaccagac acauagcaau ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 179

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M E3

<400> 179

aaccagaca cauagcaauu caguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 180

<211> 110

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M F3
 <400> 180
 cugcuggaug acgugaguaa acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 181
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M G3
 <400> 181
 accugaaucu uuggaguacc ugguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 182
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M H3
 <400> 182
 ugcugcuuac augucucgau cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 183
 <211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M A4

<400> 183

gcugcuuaca ugucucgauc uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 184

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting B2M

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M B4

<400> 184

cugcuuacau gucucgaucu auguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 185

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M A1

<400> 185

tcacgctgga tagcctccag gc 22

<210> 186

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M B1

<400> 186

ggtttactca cgtcatccag ca

22

<210> 187

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M C1

<400> 187

actcacgtca tccagcagag aa

22

<210> 188

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M D1

<400> 188

tcatccagca gagaatgaa ag

22

<210> 189

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M E1

<400> 189

agagaatgga aagtcaaatt tc

22

<210> 190

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M F1

<400> 190

cgacattgaa gttgacttac tg

22

<210> 191

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M G1

<400> 191

ttgacttact gaagaatgga ga

22

<210> 192

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M H1

<400> 192

ttactgaaga atggagagag aa 22

<210> 193
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of B2M target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M A2
 <400> 193

tactgaagaa tggagagaga at 22

<210> 194
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of B2M target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M B2
 <400> 194

actgaagaat ggagagagaa tt 22

<210> 195
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of B2M target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M C2
 <400> 195

tctttctate tcttgacta ca 22

<210> 196
 <211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M D2

<400> 196

tactacactg aattcacccc ca

22

<210> 197

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M E2

<400> 197

actacactga attcaccccc ac

22

<210> 198

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M F2

<400> 198

ctacactgaa ttcacccccca ct

22

<210> 199

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M G2

<400> 199

atactcatct ttttcagtgg gg 22

<210> 200

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M H2

<400> 200

gaattcagtg tagtacaaga ga 22

<210> 201

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M A3

<400> 201

gagatagaaa gaccagtctt tg 22

<210> 202

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M B3

<400> 202

cagtccttgc tgaagacaa gt

22

<210> 203

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M C3

<400> 203

agtcaacttc aatgtcggat gg

22

<210> 204

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M D3

<400> 204

aaaccagac acatagcaat tc

22

<210> 205

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M E3

<400> 205
aaccagaca catagcaatt ca 22

<210> 206
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site
<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M F3

<400> 206
ctgctggatg acgtgagtaa ac 22

<210> 207
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site
<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M G3

<400> 207
acctgaatct ttggagtacc tg 22

<210> 208
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of B2M target site
<220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M H3

<400> 208
tgctgcttac atgtctcgat ct 22

<210> 209

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of B2M target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M A4
 <400> 209
 gctgcttaca tgtctcgatc ta 22

<210> 210
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of B2M target site

 <220><223> Description: MG3-6/3-4 B2M B4
 <400> 210
 ctgcttacat gtctcgatct at 22

<210> 211
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A1
 <400> 211
 cagaagcaga gaucucccac acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 212
 <211> 110
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 B1

<400> 212

ccacguggag cugagcuggu gggguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 213

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 C1

<400> 213

aguccaguuc uacgggcucu cgguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 214

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 D1

<400> 214

gauuagguga gaccagcuac caguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 215

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 E1

<400> 215

auuaggugag accagcuacc agguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 216

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 F1

<400> 216

uuaggugaga ccagcuacca gguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 217

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 G1

<400> 217

ugagaccagc uaccaggga aaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 218

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 H1

<400> 218

cagguagcag acaagacuag auguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 219

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A2

<400> 219

agguagcaga caagacuaga ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 220

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 B2

<400> 220

agcagacaag acuagaacca aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 221

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 C2

<400> 221

ggaaccagcg cacaccauga agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 222

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 D2

<400> 222

guggcugaca ucugcauggc agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 223

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 E2

<400> 223

ggccugggag ucugugccaa cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 224

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 F2

<400> 224

cugacuuuac uuuuuauugc cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 225

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 G2

<400> 225

ugacuuuacu uuuuuuugcc uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 226

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 H2

<400> 226

gacuuuacu uuuuuugccu auguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 227

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A3

<400> 227

gggaaggaga agcuggaguc acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 228

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 B3

<400> 228

ggaaggagaa gcuggaguca ccguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 229

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 C3

<400> 229

aacuccggc ucuaauaac ccguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 230

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 D3

<400> 230

aacuuucucu ucugcagguc aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 231

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 E3

<400> 231

acuccacuuc caggcugucc uuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 232

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 F3

<400> 232

cuccacuucc agggcugccu ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 233

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 G3

<400> 233

uccuuucucu ugaccugcag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 234

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 H3

<400> 234

agccaggagu ugugaggauu gaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 235

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A4

<400> 235

aguaguagg ccuauugacc acguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 236

<211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 B4
 <400> 236
 ugaaguau cuucugaggc acguugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 237
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 C4
 <400> 237
 aguuauuc ugaggcaccu gaguugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 238
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 D4
 <400> 238
 guuauucuu gaggcaccug aaguugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 239

<211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 E4
 <400> 239
 ucaagaacca ugagagaggg agguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 240
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 F4
 <400> 240
 caagaaccuu gagagagga gaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 241
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 G4
 <400> 241
 uuaccgagg uaaagccaca guguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 242

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 H4

<400> 242

ccgagguaaa gccacagucu gaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 243

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A5

<400> 243

cagucugaaa gaaagcaggg agguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 244

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 B5

<400> 244

agucugaaag aaagcaggga gaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 245

<211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 C5

<400> 245

gucugaaaga aagcaggag agguugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 246

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 D5

<400> 246

gaaagaaagc aggagagga aaguugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 247

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 E5

<400> 247

gagaccuuau uucauaggc aaguugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 248

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 F5

<400> 248

gaugagaguu acacaggcca caguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 249

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 G5

<400> 249

agcugcuugg cucuguuggg cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 250

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 H5

<400> 250

uguugggcug agaaucuggg agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 251
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC1
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A6
 <400> 251
 ggaacaccuu guucaggucc ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 252
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A1
 <400> 252
 cagaagcaga gatctccac ac 22

<210> 253
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 B1
 <400> 253
 ccacgtggag ctgagctggt gg 22

<210> 254
 <211> 22

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 C1
 <400> 254
 agtccagttc tacgggctct cg 22
 <210> 255
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 D1
 <400> 255
 gattagtgga gaccagctac ca 22
 <210> 256
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 E1

 <400> 256
 attagtgag accagctacc ag 22
 <210> 257
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 F1

<400> 257

ttaggtgaga ccagctacca gg

22

<210> 258

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 G1

<400> 258

tgagaccagc taccaggaa aa

22

<210> 259

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 H1

<400> 259

caggtagcag acaagactag at

22

<210> 260

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A2

<400> 260
 aggtagcaga caagactaga tc 22
 <210> 261
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 B2
 <400> 261
 agcagacaag actagatcca aa 22
 <210> 262
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 C2
 <400> 262
 ggaaccagcg cacacatga ag 22
 <210> 263
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 D2
 <400> 263
 gtggctgaca tctgcatggc ag 22
 <210> 264

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 E2

<400> 264
 ggccctgggag tctgtgccaa ct 22

<210> 265
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 F2

<400> 265
 ctgactttac ttttaattgc ct 22

<210> 266
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 G2
 <400> 266
 tgactttact ttttaattgcc ta 22

<210> 267
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 H2
 <400> 267
 gactttactt ttaattgcct at 22

<210> 268
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A3
 <400> 268
 gggaaggaga agctggagtc ac 22

<210> 269
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 B3
 <400> 269
 ggaaggagaa gctggagtca cc 22

<210> 270
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 C3
 <400> 270
 aactcctggc tcttaataac cc 22
 <210> 271
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 D3
 <400> 271
 aactttctct tctgcaggtc aa 22
 <210> 272
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 E3
 <400> 272
 actccacttc cagggtgcc tt 22
 <210> 273
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 F3
 <400> 273
 ctccacttcc agggctgcct tc 22

<210> 274
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 G3

<400> 274

tcctttctct tgacctgcag aa 22

<210> 275

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 H3

<400> 275

agccaggagt tgtgaggatt ga 22

<210> 276

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A4

<400> 276

agtagtaggg cccattgacc ac 22

<210> 277

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 B4

<400> 277

tgcaagttat cttctgaggc ac

22

<210> 278

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 C4

<400> 278

agttatcttc ttaggcacct ga

22

<210> 279

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 D4

<400> 279

gttatcttct gaggcacctg aa

22

<210> 280

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 E4

<400> 280

tcaagaacca tgagagaggg ag

22

<210> 281

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 F4

<400> 281

caagaacccat gagagagggga ga

22

<210> 282

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 G4

<400> 282

ttaccggagg taaagccaca gt

22

<210> 283

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 H4

<400> 283

ccgaggtaaa gccacagtct ga 22

<210> 284
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A5
 <400> 284
 cagtctgaaa gaaagcaggg ag 22

<210> 285
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 B5
 <400> 285
 agtctgaaag aaagcagga ga 22

<210> 286
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 C5
 <400> 286
 gtctgaaaga aagcaggag ag 22

<210> 287
 <211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 D5

<400> 287

gaaagaaagc agggagagga aa

22

<210> 288

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 E5

<400> 288

gagaccttat tttcataggc aa

22

<210> 289

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 F5

<400> 289

gatgagagtt acacaggcca ca

22

<210> 290

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 G5

<400> 290

agctgcttgg ctctgttggg ct 22

<210> 291

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 H5

<400> 291

tgttgggctg agaatctggg ag 22

<210> 292

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC1 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC1 A6

<400> 292

ggaacacctt gttcaggtcc tc 22

<210> 293

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A1

<400> 293

accucuucc uuuccagagg acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 294

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B1

<400> 294

ccucuuccu uuccagagga ccguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 295

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C1

<400> 295

cucuuccuu uccagaggac cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 296

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D1

<400> 296

cagaagcaga gaucuccac acguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 297

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E1

<400> 297

ccacguggag cugagcuggu gggauagagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 298

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 F1

<

400> 298

aguccaguuc uacgggcucu cggauagagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 299

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 G1

<400> 299

gauuagguga gaccagcuac caguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 300

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 H1

<400> 300

auuaggugag accagcuacc agguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 301

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A2

<400> 301

uuaggugaga ccagcuacca gguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 302

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B2

<400> 302

ugagaccagc uaccagggaa aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 303

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C2

<400> 303

uagcggacaa gacuagauc agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 304

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D2

<400> 304

ccccaccaa gaagcauaga gguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 305

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E2

<400> 305

ucugcucucg aaccaggca ugguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 306

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 F2

<400> 306

ggaacauac acaugggcau aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 307

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 G2

<400> 307

ccuaauauau ccuaucaccu caguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 308

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 H2

<400> 308

accuaaaga agccagacug gggugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60
 augcugacu cucaccgucc guuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 309

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A3

<400> 309

ccuaaaga gccagacugg gggugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60
 augcugacu cucaccgucc guuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 310

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B3

<400> 310

cauaaaga ccagacugg gagugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60
 augcugacu cucaccgucc guuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 311

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C3

<400> 311

gccagacugg ggagaaaug caguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 312

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D3

<400> 312

ggagaaaug cagggaauau caguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 313

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E3

<400> 313

ggagacaacc agcgagcccu acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 314

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 F3

<400> 314

uacuccugcu gugccauagc ccguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 315

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 G3

<400> 315

cugugccaua gcccugaaa ccguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 316

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 H3

<400> 316

ugugccauag ccccugaaac ccguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 317

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A4

<400> 317

gugccauagc ccugaaacc cuguugagaa ucgaaagau cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 318

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B4

<400> 318

uguucucucu uccacagguc aaguugagaa ucgaaagau cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 319

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C4

<400> 319

gaaaggauuc cagaggcuag cuguugagaa ucgaaagau cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 320

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D4

<400> 320

ggauguuuu ggagcuagcc ucgugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 321

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E4

<400> 321

cccugguucg agagcagaga cggugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 322

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 F4

<400> 322

agcagagacg gcgaaagaua gaguugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 323

<211> 110

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 G4
 <400> 323
 gcagagacgg cgaagauag agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 324
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 H4
 <400> 324
 cagagacggc gaaagauaga gaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 325
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A5
 <400> 325
 uuaccggagg ugaagccaca guguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 326
 <211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B5

<400> 326

cggaggugaa gccacagucu gaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 327

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C5

<400> 327

ggaggugaag ccacagucug aaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 328

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D5

<400> 328

acagucugaa agaaaacagg gguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 329

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E5

<400> 329

cagucugaaa gaaaacaggg gaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 330

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 F5

<400> 330

agucugaaag aaaacagggg aaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 331

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 G5

<400> 331

gucugaaaga aaacagggga agguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 332

<211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 H5
 <400> 332
 acaggggaag aaaauggau gaguugagaa ucgaaagau cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 333
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A6
 <400> 333
 gcgaaguggu cacuaugauc uuguugagaa ucgaaagau cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 334
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B6

 <400> 334
 uuaggaacc aggaccccag aaguugagaa ucgaaagau cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 335

<211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C6
 <400> 335
 uaaggcuggu ccucaggag acguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 336
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D6
 <400> 336
 cuaagguguc aggaucugaa gguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 337
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting TRBC2
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E6
 <400> 337
 ggaacacguu uuucaggucc ucguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 338

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A1

<400> 338
 acctcttccc ttccagagg ac 22

<210> 339
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B1

<400> 339
 cctcttcct ttccagagga cc 22

<210> 340
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C1
 <400> 340
 ctcttcctt tccagaggac ct 22

<210> 341
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D1
 <400> 341
 cagaagcaga gatctcccac ac 22

<210> 342
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E1
 <400> 342
 ccacgtggag ctgagctggt gg 22

<210> 343
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 F1
 <400> 343
 agtccagttc tacgggctct cg 22

<210> 344
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 G1
 <400> 344
 gattaggtga gaccagctac ca 22
 <210> 345
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 H1
 <400> 345
 attagtgag accagctacc ag 22
 <210> 346
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A2
 <400> 346
 ttagtgaga ccagctacca gg 22
 <210> 347
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B2
 <400> 347
 tgagaccagc taccagggaa aa 22

<210> 348
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C2

<400> 348

tagcggacaa gactagatcc ag

22

<210> 349

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D2

<400> 349

ccccaccaa gaagcataga gg

22

<210> 350

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E2

<400> 350

tctgctctcg aaccagggca tg

22

<210> 351

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 F2

<400> 351

ggaacatcac acatgggcat aa

22

<210> 352

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 G2

<400> 352

cctaataatat cctatcacct ca

22

<210> 353

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 H2

<400> 353

accataatga agccagactg gg

22

<210> 354

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A3

<400> 354

ccataatgaa gccagactgg gg

22

<210> 355

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B3

<400> 355

cataatgaag ccagactggg ga

22

<210> 356

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C3

<400> 356

gccagactgg ggagaaaatg ca

22

<210> 357

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D3

<400> 357

ggagaaaatg caggaatat ca 22

<210> 358
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E3
 <400> 358

ggagacaacc agcgaccct ac 22

<210> 359
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 F3
 <400> 359

tactcctgct gtgcatagc cc 22

<210> 360
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 G3
 <400> 360

ctgtgccata gccctgaaa cc 22

<210> 361
 <211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 H3

<400> 361

tgtgccatag ccctgaaac cc 22

<210> 362

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A4

<400> 362

gtgccatagc ccctgaaacc ct 22

<210> 363

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B4

<400> 363

tgttctctct tccacagtc aa 22

<210> 364

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C4

<400> 364

gaaaggattc cagaggctag ct

22

<210> 365

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D4

<400> 365

ggatggtttt ggagctagcc tc

22

<210> 366

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E4

<400> 366

ccctggttcg agagcagaga cg

22

<210> 367

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 F4

<400> 367

agcagagacg gcgaaagata ga

22

<210> 368

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 G4

<400> 368

gcagagacgg cgaagatag ag

22

<210> 369

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 H4

<400> 369

cagagacggc gaaagataga ga

22

<210> 370

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A5

<400> 370
 ttaccggagg tgaagccaca gt 22

<210> 371
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B5

<400> 371
 cggagtgaa gccacagtct ga 22

<210> 372
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C5

<400> 372
 ggaggtgaag ccacagtctg aa 22

<210> 373
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D5

<400> 373
 acagtctgaa agaaaacagg gg 22

<210> 374

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E5
 <400> 374
 cagtctgaaa gaaaacaggg ga 22
 <210> 375
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 F5
 <400> 375
 agtctgaaag aaaacagggg aa 22
 <210> 376
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 G5
 <400> 376
 gtctgaaaga aaacagggga ag 22
 <210> 377
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 H5

<400> 377

acaggggaag aaaaatggat ga 22

<210> 378

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 A6

<400> 378

gcgaagtggc cactatgac tt 22

<210> 379

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 B6

<400> 379

ttaggaaacc aggacccag aa 22

<210> 380

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 C6
 <400> 380
 tatggctggt cctcaggag ac 22
 <210> 381
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 D6
 <400> 381
 ctaaggtgtc aggatctgaa gg 22
 <210> 382
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of TRBC2 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 TRBC2 E6
 <400> 382
 ggaacacggtt ttcaggtcc tc 22
 <210> 383
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A1
 <400> 383
 uuguuccucu aguuuuuucc ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 384
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B1
 <400> 384
 auuugauucu cuaucuccag agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 385
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C1
 <400> 385
 uuugauucuc uaucuccaga gcguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 386
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D1
 <400> 386
 aagauuugcu auguuagacg auguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 387
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E1
 <400> 387
 agauuugcua uguuagacga ugguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 388
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F1

 <400> 388
 gauuugcua uuuagacgau guguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 389
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G1
 <400> 389
 acuuugucca uaagacgaag gguuugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 390

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H1

<400> 390

agggccaaau uaaugacaua uuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 391

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A2

<400> 391

gggccaaaau aaugacauau uuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 392

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B2

<400> 392

uaugaucuau cgugcaaac caguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 393
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C2
 <400> 393
 augaucuau gcugcaaacc agguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

 <210> 394
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D2
 <400> 394
 caaacagug aaaucaaaga agguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 395
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E2
 <400> 395

aaaccaguga aaucaaagaa gaguugagaa ucgaaagauu cuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 396
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F2

<400> 396
 acaagucaaa aaugaagagg uaguugagaa ucgaaagauu cuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 397
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G2

<400> 397
 gaaauauguca cuugaacuca acguugagaa ucgaaagauu cuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 398
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H2
 <400> 398

ucacuugaac ucaacucaaaa acguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 399
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A3
 <400> 399

ucaaaacuug aaagccuccu agguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 400
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B3

<400> 400
 caaaacuuga aagccuccua gaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 401
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C3
 <400> 401

aaaacuugaa agccuccuag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 402

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D3

<400> 402

aaacuugaaa gccuccuaga agguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 403

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E3

<400> 403

aacuugaaag ccuccuagaa gaguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 404

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F3

<400> 404
 guucuggagu uucagguuga uuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 405
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G3
 <400> 405
 cacugguuug cagcgauaga ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

 <210> 406
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H3
 <400> 406
 acugguuugc agcgauagau caguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 407
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A4

<400> 407
 cgauagauca uaaaaagacu gaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 408
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B4

<400> 408
 cccaacugaa ggaggccaau gggauagagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 409
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C4

<400> 409
 ccaacugaag gaggccaauug gcguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 410
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D4

<400> 410
 cuugauuuug gcucuggaga uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucgg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 411
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E4

<400> 411
 uuuuggcucu ggagauagag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucgg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 412
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F4

<400> 412
 ucuggagaua gagaaucaaa ugguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucgg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 413
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G4

<400> 413
 gaaugucuu gaucaauucu gggugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 414
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H4

<400> 414
 aaugucuu aucaauucug gagugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 415
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A5

<400> 415
 ggaggaaaua acuagaggaa caguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 416
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B5

<400> 416

gaggaaauaa cuagaggaac aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 417

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C5

<400> 417

acucucuaua uccagacuuu ugguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 418

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D5

<400> 418

cucucuauau ccagacuuuu guguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 419

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E5

<400> 419

ucucuauauc cagacuuuug uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 420

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F5

<400> 420

aacaauuaaa ccaacagcau agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 421

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G5

<400> 421

auuaaaccaa cagcauaguc aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 422

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H5

<400> 422

aaccaacagc auagucaaa uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 423

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A6

<400> 423

accaacagca uagucaaa uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 424

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B6

<400> 424

gaugcuauua ucuuguuuuu cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 425

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C6

<400> 425

aggacuagua uucaagaacc caguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 426

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D6

<400> 426

ggacuaguau ucaagaaccc acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 427

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E6

<400> 427

aagaacuacu cccuuucuc agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 428

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F6

<400> 428

acuacuccu uucucaguu gaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 429

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G6

<400> 429

cuacuccuu ucuucaguug aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 430

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H6

<400> 430

ccuuucuca guugaagaa auguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 431

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A7

<400> 431

ggugcucuug gcuuggaaga uaguugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 432

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B7

<400> 432

gugcucuugg cuuggaagau agguugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 433

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C7

<400> 433

auagagaaa uucuguggu ucguugagaa ucgaaagau cuuaaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 434

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D7

<400> 434

gaaauacuagu ccuucugagc ugguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 435

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E7

<400> 435

uuauugauuc uaggcauucc ugguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 436

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F7

<400> 436

gucuacugug auguuauauc agguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 437

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G7

<400> 437

cugauauaac aucacaguag acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 438

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H7

<400> 438

ugauauaaca ucacaguaga caguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 439

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A8

<400> 439

gauauaacau cacaguagac auguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 440

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B8

<400> 440

cacuuguau g uucaccucug uuguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 441

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C8

<400> 441

uauaaauggu gguacauuca gcguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 442

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D8

<400> 442

ugguacauuc agcaggaau g ccguugagaa ucgaaagauu cuuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 443

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E8

<400> 443

guccauggac auuauucaa caguugagaa ucgaaagauu cuuauuaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 444

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F8

<400> 444

uucaacaucg aaugaugga ucguugagaa ucgaaagauu cuuauuaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 445

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G8

<400> 445

auagauggau cacaaaacuu caguugagaa ucgaaagauu cuuauuaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 446

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H8

<400> 446

uucaugaaa cgugggagaa cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 447

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A9

<400> 447

aguccccuaa ccaucaagcc ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 448

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B9

<400> 448

uuugugaacc aucuauucga ugguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 449

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C9

<400> 449

ugaauuaag ucacuggacu acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 450

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D9

<400> 450

uuuacgaauu gaguuggaag acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 451

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E9

<400> 451

ggcaaugucc ccaaugcaau ccguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 452

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F9

<400> 452

gcaaugucc caugcauc ccguugagaa ucgaaagau cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 453

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G9

<400> 453

guuuucuacu uggaucaca aaguugagaa ucgaaagau cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 454

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H9

<400> 454

ccuuugcuu ugugauccea agguugagaa ucgaaagau cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 455

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A10

<400> 455

uuuuuguuu gugauccaa uguugagaa ucgaaagau cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 456

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B10

<400> 456

uuugauccc aaguagaaa caguugagaa ucgaaagau cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 457

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C10

<400> 457

aguuguuuc gugauuucc aaguugagaa ucgaaagau cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 458

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D10

<400> 458

guugguuucg ugauuuccca agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 459

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E10

<400> 459

guuucgugau uucccaagua aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 460

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F10

<400> 460

uuccagucuu ccaacucaau ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 461

<211> 110

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G10
 <400> 461
 aguauaucuu cucuaggccc aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 462
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H10
 <400> 462
 guauaucuuc ucuaggccca acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 463
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A11
 <400> 463
 ucuaggccca accaaaauuc ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 464
 <211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B11

<400> 464

cuaggcccaa ccaaaauucu ccguugagaa ucgaaagauu cuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 465

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C11

<400> 465

gcccaaccaa aaucuccug aaguugagaa ucgaaagauu cuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 466

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D11

<400> 466

uggugguggc augaugagug ugguugagaa ucgaaagauu cuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 467

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E11

<400> 467

ggugguggca ugaugagugu gggugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 468

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F11

<400> 468

ugaugagugu ggagaaaaca acguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 469

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G11

<400> 469

uguggagaaa acaaccuaaa ugguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 470

<211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H11
 <400> 470
 gguaaaauua acaaaccaag agguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 471
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A12
 <400> 471
 gaagaggauu aucuuggaag ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 472
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B12

 <400> 472
 aagaggauua ucuuggaagu cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 473

<211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C12
 <400> 473
 ucaaaaugga agguuauacu cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 474
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D12
 <400> 474
 caaaauggaa gguuauacuc uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 475
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E12
 <400> 475
 auguugauc auccaacaga uuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 476

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F12

<400> 476

cauccaacag auucagaaag cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 477

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting ANGPTL3

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G12

<400> 477

gccucaguuc auucaaaagc uuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 478

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A1

<400> 478

ttgttctct agttatttcc tc 22

<210> 479

<211> 22

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B1

<400> 479

atttgattct ctatctccag ag

22

<210> 480

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C1

<400> 480

tttgattctc tatctccaga gc

22

<210> 481

<211> 22

<212> DNA

<

213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D1

<400> 481

aagatttgct atgtagacg at

22

<210> 482

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220>
 ><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E1
 <400> 482
 agatttgcta tgtagacga tg 22
 <210> 483
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F1
 <400> 483
 gatttgctat gtagacgat gt 22
 <210> 484
 <211> 22
 <212> DNA
 <213>
 Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G1
 <400> 484
 actttgtcca taagacgaag gg 22
 <210> 485
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223>

> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H1

<400> 485

agggccaaat taatgacata tt

22

<210> 486

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A2

<400> 486

gggccaaatt aatgacatat tt

22

<210> 487

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B2

<400> 487

tatgatctat cgctgcaaac ca

22

<210> 488

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C2

<400> 488

atgatctatc gctgcaaacc ag

22

<210> 489
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D2
 <400> 489
 caaacctgtg aaatcaaaga ag 22
 <210> 490
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E2
 <400> 490
 aaaccagtga aatcaaagaa ga 22
 <210> 491
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F2
 <400> 491
 acaagtcaaa aatgaagagg ta 22
 <210> 492
 <211> 22
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G2
 <400> 492
 gaatatgtca ctggaactca ac 22
 <210> 493
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H2
 <400> 493
 tcacttgaac tcaactcaaa ac 22
 <210> 494
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A3
 <400> 494
 tcaaaacttg aaagcctcct ag 22
 <210> 495
 <211> 22
 <212> DNA
 <
 213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B3

<400> 495

caaaacttga aagcctccta ga

22

<210> 496

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220

><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C3

<400> 496

aaaacttgaa agcctcctag aa

22

<210> 497

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D3

<400> 497

aaacttgaaa gcctcctaga ag

22

<210> 498

<211> 22

<212> DNA

<213>

Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E3

<400> 498

aacttgaaag cctcctagaa ga 22

<210> 499

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223>

> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F3

<400> 499

gttctggagt ttcaggttga tt 22

<210> 500

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G3

<400> 500

cactggtttg cagcgataga tc 22

<210> 501

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H3

<400> 501

actggtttgc agcgatagat ca 22

<210> 502

<211> 22

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A4

<400> 502
 cgatagatca taaaagact ga 22

<210> 503

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B4

<400> 503
 cccaactgaa ggaggccatt gg 22

<210> 504

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C4

<400> 504
 ccaactgaag gaggccattg gc 22

<210> 505

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D4
 <400> 505
 cttgattttg gctctggaga ta 22

<210> 506
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E4
 <400> 506
 ttttgctct ggagatagag aa 22

<210> 507
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F4
 <400> 507
 tctggagata gagaatcaaa tg 22

<210> 508
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G4

<400> 508
gaattgtcctt gatcaattct gg 22

<210> 509
<211> 22
<212> DNA
<
213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H4
<400> 509
aattgtccttg atcaattctg ga 22

<210> 510
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
<220>
><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A5
<400> 510
ggaggaaata actagaggaa ca 22

<210> 511
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B5
<400> 511
gaggaaataa ctagaggaac aa 22

<210> 512

<211> 22
 <212> DNA
 <213>
 Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C5
 <400> 512
 actctctata tccagacttt tg 22
 <210> 513
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223>
 > Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D5
 <400> 513
 ctctctatat ccagactttt gt 22
 <210> 514
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E5
 <400> 514
 tctctatatac cagacttttg ta 22
 <210> 515
 <211> 22
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F5

<400> 515

aacaattaaa ccaacagcat ag

22

<210> 516

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G5

<400> 516

attaaaccaa cagcatagtc aa

22

<210> 517

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H5

<400> 517

aaccaacagc atagtcaaat aa

22

<210> 518

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A6
 <400> 518
 accaacagca tagtcaaata aa 22
 <210> 519
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B6
 <400> 519
 gatgctatta tcttgTTTT ct 22
 <210> 520
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C6
 <400> 520
 aggactagta ttcaagaacc ca 22
 <210> 521
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D6

<400> 521
 ggactagtat tcaagaaccc ac 22
 <210> 522
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E6
 <400> 522
 aagaactact ccctttcttc ag 22
 <210> 523
 <211> 22
 <212> DNA
 <
 213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F6
 <400> 523
 actactccct ttcttcagtt ga 22
 <210> 524
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220>
 ><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G6
 <400> 524
 ctactccctt tcttcagttg aa 22
 <210> 525

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H6
 <400> 525
 cctttcttca gttgaatgaa at 22
 <210> 526
 <211> 22
 <212> DNA
 <213>
 Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A7
 <400> 526
 ggtgctcttg gcttgaaga ta 22
 <210> 527
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223>
 > Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B7
 <400> 527
 gtgctcttgg cttggaagat ag 22
 <210> 528
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C7

<400> 528

atagagaaat ttctgtgggt tc 22

<210> 529

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D7

<400> 529

gaatactagt ccttctgagc tg 22

<210> 530

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E7

<400> 530

ttattgattc taggcattcc tg 22

<210> 531

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F7
 <400> 531
 gtctactgtg atgttatatc ag 22
 <210> 532
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G7
 <400> 532
 ctgatataac atcacagtag ac 22
 <210> 533
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H7
 <400> 533
 tgatataaca tcacagtaga ca 22
 <210> 534
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A8
 <400> 534
 gatataacat cacagtagac at 22

<210> 535
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B8

<400> 535
 cacttgatg ttcacctctg tt 22

<210> 536
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C8

<400> 536
 tataaatggt ggtacattca gc 22

<210> 537
 <211> 22
 <212> DNA

<
 213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D8

<400> 537
 tggtagcattc agcaggaatg cc 22

<210> 538
 <211> 22
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220>
 ><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E8
 <400> 538
 gtccatggac attaattcaa ca 22
 <210> 539
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F8
 <400> 539
 ttcaacatcg aatagatgga tc 22
 <210> 540
 <211> 22
 <212> DNA
 <213>
 Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G8
 <400> 540
 atagatggat cacaaaactt ca 22
 <210> 541
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223>
 > Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H8
 <400> 541
 ttcaatgaaa cgtgggagaa ct 22
 <210> 542
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A9
 <400> 542
 agtcccctta ccatcaagcc tc 22
 <210> 543
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B9
 <400> 543
 tttgtgatcc atctattcga tg 22
 <210> 544
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C9

<400> 544
 tgaattaatg tccatggact ac 22

<210> 545
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D9

<400> 545
 tttagcaatt gaggatgaag ac 22

<210> 546
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E9

<400> 546
 ggcaatgtcc ccaatgcaat cc 22

<210> 547
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F9

<400> 547
 gcaatgtccc caatgcaatc cc 22

<210> 548

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G9
 <400> 548
 gttttctact tgggatcaca aa 22
 <210> 549
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H9
 <400> 549
 ccttttgctt tgtgatccca ag 22
 <210> 550
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A10
 <400> 550
 cttttgcttt gtgatcccaa gt 22
 <210> 551
 <211> 22
 <212> DNA

 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B10

<400> 551

ttgtgatccc aagtagaaaa ca 22

<210> 552

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<

220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C10

<400> 552

agttggtttc gtgatttccc aa 22

<210> 553

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D10

<400> 553

gttggtttcg tgatttccca ag 22

<210> 554

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E10
 <400> 554
 gtttcgtgat ttccaagta aa 22
 <210> 555
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <
 220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F10
 <400> 555
 ttccagtcct ccaactcaat tc 22
 <210> 556
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G10
 <400> 556
 agtatatcct ctctaggccc aa 22
 <210> 557
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H10
 <400> 557
 gtatatcttc tctaggccca ac 22

<210> 558
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <
 220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A11
 <400> 558
 tctaggccca accaaaattc tc 22
 <210> 559
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B11
 <400> 559
 ctaggcccaa ccaaaattct cc 22
 <210> 560
 <211> 22
 <212> DNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C11
 <400> 560
 gcccaacca aattctcctg aa 22
 <210> 561
 <211> 22
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <
 220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D11
 <400> 561
 tgggtggggc atgatgagtg tg 22
 <210> 562
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E11
 <400> 562
 ggtgggtggca tgatgagtgt gg 22
 <210> 563
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F11
 <400> 563
 tgatgagtgt ggagaaaaca ac 22
 <210> 564
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G11

<400> 564

tgtggagaaa acaacctaaa tg

22

<210> 565

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 H11

<400> 565

ggtaaata acaaaccaag ag

22

<210> 566

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 A12

<400> 566

gaagaggatt atcttgaag tc

22

<210> 567

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site

<

<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 B12

<400> 567
aagaggatta tcttgaagt ct 22

<210> 568
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 C12

<400> 568
tcaaaatgga aggttatact ct 22

<210> 569
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
<220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 D12

<400> 569
caaaatgga ggttatactc ta 22

<210> 570
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
<
220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 E12

<400> 570
atggtgatcc atccaacaga tt 22

<210> 571

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 F12
 <400> 571
 catccaacag attcagaaag ct 22
 <210> 572
 <211> 22
 <212> DNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of ANGPTL3 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 ANGPTL3 G12
 <400> 572
 gcctcagttc attcaaagct tt 22
 <210> 573
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9
 <220>
 <223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 A1
 <400> 573
 accccuccac gguaccgggc gggugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 574
 <211> 110
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 B1
 <400> 574
 accagcauac agagugacca ccguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 575
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 C1
 <400> 575
 ccagcauaca gagugaccac ccguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 576
 <211> 110

 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 D1
 <400> 576
 cagggucaug gucaccgacu ucguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 577
 <211> 110
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 E1

<400> 577

ccucccaggc cuggaguuaa uuguugagaa ucgaaagauu cuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 578

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 F1

<

400> 578

cucccaggcc uggaguuaa ucuugagaa ucgaaagauu cuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 579

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 G1

<400> 579

caggcuggac cagcuggcuu uuguugagaa ucgaaagauu cuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 580

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 H1

<400> 580

gguggcccca acugugauga ccguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 581

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 A2

<400> 581

gccccgccgc uucccacucc ugguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 582

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 B2

<400> 582

agugugcuga ccuacaguc cuguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 583

<211> 110

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 C2
 <400> 583
 ccugcaaac agcugccaac cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 584
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 D2
 <400> 584
 cugcaaaaca gcugccaacc ugguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 585
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 E2
 <400> 585
 aauggcguag acaccucac ccguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 586
 <211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 F2

<400> 586

uccugcugcc augccccagg ucguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 587

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting PCSK9

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 G2

<400> 587

uggaaugcaa agucaaggag caguugagaa ucgaaagauu cuuaaauagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 588

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 A1

<400> 588

accctccac ggtaccgggc gg 22

<210> 589

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PCSK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 B1

<400> 589

accagcatac agagtgacca cc

22

<210> 590

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PCSK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 C1

<400> 590

ccagcataca gagtgaccac cg

22

<210> 591

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PCSK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 D1

<400> 591

cagggtcacg gtcaccgact tc

22

<210> 592

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 E1

<400> 592

cctcccaggc ctggagtta tt

22

<210> 593

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 F1

<400> 593

ctcccaggcc tggagttat tc

22

<210> 594

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 G1

<400> 594

caggctggac cagctggctt tt

22

<210> 595

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 H1

<400> 595

ggtggcccca actgtgatga cc 22

<210> 596
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 A2
 <400> 596
 gccccgccgc ttccactcc tg 22

<210> 597
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 B2
 <400> 597
 agtgtgctga ccatacagtc ct 22

<210> 598
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site
 <220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 C2
 <400> 598
 cctgcaaac agctgccaac ct 22

<210> 599
 <211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 D2

<400> 599

ctgcaaaaca gctgccaacc tg

22

<210> 600

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 E2

<400> 600

aatggcgtag acaccctcac cc

22

<210> 601

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 F2

<400> 601

tcttgetgcc atgccccagg tc

22

<210> 602

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<220><223> Category: DNA sequence of PSCK9 target site

<220><223> Description: MG3-6/3-4 PCSK9 G2

<400> 602

tggaatgcaa agtcaaggag ca 22

<210> 603

<211> 3705

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 coding sequence

<220><223> Description: DNA sequence of MG3-6/3-4 coding sequence

<400> 603

atgcatgctg ggcgcaagc ttaatacga ctactataa ggaaaagcca gctccagcag 60

gcgctgctca ctctcecca tcctctcct ctgtccctct gtcctctga cctgcactg 120

tcccagcacc atggcccca agaagaagcg gaaagttggc ggcggaggca gcagaccga 180

catgaagaac taccgatcg gcgtggacgt gggcgataga tctgttgac tggccgcat 240

cgagttcgac gatgatggac tgcccatcca gaagctggcc ctggtcacct ttagacacga 300

tggcggactg gacccacca agaacaagac ccctatgagc cggaaagaga cacggggaat 360

cgccagacgg accatgcgga tgaacagaga gcggaagcgg cggctgagaa acctggacaa 420

cgtgctggaa aaactgggct actctgtgcc tgagggcct gagcctgaga catatgaggc 480

ctggacaagc agagccctgc tggcctctat caaactggcc tctgccgacg agctgaacga 540

acacctgtgc agagccgtgc ggcacatggc cagacataga ggatgggcca atccttggtg 600

gtccctggac cagctggaaa aggccagcca agagcctagc gagacattcg agatcatcct 660

ggccagagcc agagagctgt tcggcgagaa ggtgcccgct aatcctacac tgggaatgct 720

gggagccctg gccgctaaca atgaggtgct gctgaggccc agggacgaga agaagagaaa 780

gaccggatac gtgcggggca cccctctgat gtttgctcaa gttcgacagg gcgatcagct 840

ggccgagctg cggagaattt gtgaagtgc gggcatcgag gaccagtacg aggctctgag 900

actggcgctg ttcgaccaca agcaccccta cgtgcccaaa gaaagagtgg gcaaagaccc 960

tctgaacccc agcaccaaca gaaccatcag agccagcctg gaatttcaag agttccgcat 1020
 cctggacagc gtggccaatc tgagagtgcg gatcggcagc agagccaaga gggaactgac 1080
 agaggccgag tatgatgccg ccgtggaatt cctgatggac tacgccgaca aagagcagcc 1140
 tagctgggcc gatgtggccg agaaaattgg cgtgcccgcc aacagactgg tggcccctgt 1200
 tctggaagat gtcagcaga aaacagcccc ttacgacaga agcagcgccg cctttgagaa 1260
 ggccatgggc aagaaaaccg aggccagaca gtggtgggag tccaccgatg atgaccagct 1320

gagaagcctg ctgattgcct tcttgggtga cgccaccaac gacacagaag aagccgctgc 1380
 tgaagccggc ctgagcgagc tgtataagtc ttggcctgcc gaggaaagag aggccctgtc 1440
 caacatcgac ttcgagaagg gcagagtggc ctacagccaa gaaaccctga gcaagctgag 1500
 cgagtlacatg cacgagtaca gagtgggact gcacgaggct agaaaggccg tgttcggagt 1560
 ggatgatacc tggcggcctc ctctggataa gctggaagaa cctacaggac agcctgccgt 1620
 ggacagagtg ctgaccatcc tgagaagatt cgtgctggac tgcgagcggc aatggggcag 1680
 acctagagcc atcaccgtgg aacacacacg gacaggcctg atgggcccac cacagagaca 1740

gaagatcctg aacgagcaga agaagaaccg ggccgacaac gagagaatcc gggatgagct 1800
 gagagaatct ggcgtggaca acccctccag agccgaagtt cggagacacc tgatcgtgca 1860
 agagcaagag tgccagtgcc tgtactgcgg caccatgatc accaccacca caagcgagct 1920
 ggaccacatc gttcctagag ccggtggcgg cagcagcaga agggaaaatc tggccgctgt 1980
 gtgcagagcc tgcaacgcca agaagaaacg cgagctgttc tacgcctggg ctggcccagt 2040
 gaagtcccaa gagacaatcg agagagtcag acagctgaag gcctttaagg acagcaagaa 2100
 agccaagatg ttcaagaacc agatccgccg gctgaaccag accgaggccg atgagcctat 2160

cgacgaaaga agcctggcca gcacatctta cgccgctgtg gccgttagag agcggctgga 2220
 acagcacttc aacgaaggcc tggcactgga cgacaagtcc agagtgggtc tggatgtgta 2280
 tgccggcgct gtgaccagag agtctcgtag agctggcggc atcgacgagc ggattctgct 2340
 gagagcgag cgggacaaga acagattcga tgtgcggcat cacgccgtgg acgctgctgt 2400
 tatgaccctg ctgaacagat ccgtggctct gaccctggaa cagagatcac agctgagcg 2460
 ggcccttctac gagctggaac tggacaaact ggaccgggac cagctcaagc ctggcgagga 2520
 ttggagaaac ttcaccggcc tgtacgagc ctctcagaac aagttcagcg agtggaaagaa 2580

agccgccaca gtgctgggag atctgctggc tgaagccatc gaggatgacg ccattgccgt 2640
 ggtgtctcca ctgagactga ggccccagaa tggcagcgtg cacgacgata ccatcaacgc 2700
 cgtgaagaag ctgacactgg gctctgcctg gctgcagac gctgtgaaga gaatcgtgga 2760
 ccccagatc tacctggcta tgaaggacgt gctgggcaag ctgaaagagc tgcccagga 2820

ttctgccaga tccttggaac tgtccgacgg ccggtacatc gaagccgatg acgaggtgct 2880
 gttcttccca aagaaggccg ctagcatcct gacacctaga ggcgccgtg agatcggcaa 2940
 ctctatccac catgccagac tgtatagctg gctgaccaag aaggcgagc tgaagtttg 3000

 catgctgaga gtgtacggcg ccgagtttcc ctggctgatg agagagtctg gaagccgca 3060
 cgtgctgcat atgcctattc accctggcag ccagagcttc agaggcatgc aggatggcgt 3120
 gcgaaagcc gtgaaagcg gagaggctgt ggaattcggc tggatcaccc aggacgatga 3180
 gctggaattc gaccccagg actacattgc ccacggcgga gatgacgaac tgaacagact 3240
 gctgcgagtg atgcccgaga gaagtgggcg agtggacggc ttctataacg ccggcacact 3300
 gagaatcaga cccgctctgc tgtctgctga gcagctgcct tctgagctgc agaaaaaggt 3360
 ggccgacaag accctgagcg acgtggaact gatcctgctg agggctgttc agcggggact 3420

 gtctgtggcc atcagcagct ttctcccct ggaaagcctg aaagtgatcc ggcggaacaa 3480
 tctgggcttc cccaggtggc gcgaaacgg aatctgccc accagctttg aagtgcggag 3540
 cagcgtctg agagccctgg gattgaagg atctggcgga aaaagacctg ccgccacaaa 3600
 gaaagccgga caggccaaga aaaagaagtg accacacccc cattccccca ctccagatag 3660
 aacttcagtt atatctcacg tgtctggagt tggatccatg catgc 3705

<210> 604

<211> 1166

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 cassette coding sequence

<220><223> Description: Protein sequence of MG3-6/3-4
 cassette coding sequence (includes NLS)

<400> 604

Met Ala Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Gly Gly Gly Gly Ser Ser Thr
 1 5 10 15
 Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp Arg Ser Val
 20 25 30
 Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro Ile Gln Lys
 35 40 45

Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp Pro Thr Lys
 50 55 60
 Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile Ala Arg Arg
 65 70 75 80
 Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg Asn Leu Asp
 85 90 95
 Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly Pro Glu Pro
 100 105 110

 Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala Ser Ile Lys
 115 120 125
 Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg Ala Val Arg
 130 135 140
 His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp Ser Leu Asp
 145 150 155 160
 Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe Glu Ile Ile
 165 170 175

 Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro Ala Asn Pro
 180 185 190
 Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu Val Leu Leu
 195 200 205
 Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val Arg Gly Thr
 210 215 220
 Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu Ala Glu Leu
 225 230 235 240

 Arg Arg Ile Cys Glu Val Gln Gly Ile Glu Asp Gln Tyr Glu Ala Leu
 245 250 255
 Arg Leu Gly Val Phe Asp His Lys His Pro Tyr Val Pro Lys Glu Arg
 260 265 270
 Val Gly Lys Asp Pro Leu Asn Pro Ser Thr Asn Arg Thr Ile Arg Ala
 275 280 285
 Ser Leu Glu Phe Gln Glu Phe Arg Ile Leu Asp Ser Val Ala Asn Leu

785 790 795 800
Phe Thr Gly Leu Tyr Glu Ala Ser Gln Asn Lys Phe Ser Glu Trp Lys
 805 810 815

Lys Ala Ala Thr Val Leu Gly Asp Leu Leu Ala Glu Ala Ile Glu Asp
 820 825 830

Asp Ala Ile Ala Val Val Ser Pro Leu Arg Leu Arg Pro Gln Asn Gly
 835 840 845

Ser Val His Asp Asp Thr Ile Asn Ala Val Lys Lys Leu Thr Leu Gly
 850 855 860

Ser Ala Trp Pro Ala Asp Ala Val Lys Arg Ile Val Asp Pro Glu Ile
865 870 875 880

Tyr Leu Ala Met Lys Asp Val Leu Gly Lys Leu Lys Glu Leu Pro Glu
 885 890 895

Asp Ser Ala Arg Ser Leu Glu Leu Ser Asp Gly Arg Tyr Ile Glu Ala
 900 905 910

Asp Asp Glu Val Leu Phe Phe Pro Lys Lys Ala Ala Ser Ile Leu Thr
 915 920 925

Pro Arg Gly Ala Ala Glu Ile Gly Asn Ser Ile His His Ala Arg Leu
930 935 940

Tyr Ser Trp Leu Thr Lys Lys Gly Glu Leu Lys Phe Gly Met Leu Arg
945 950 955 960

Val Tyr Gly Ala Glu Phe Pro Trp Leu Met Arg Glu Ser Gly Ser Arg
 965 970 975

Asp Val Leu His Met Pro Ile His Pro Gly Ser Gln Ser Phe Arg Gly
 980 985 990

Met Gln Asp Gly Val Arg Lys Ala Val Glu Ser Gly Glu Ala Val Glu
995 1000 1005

Phe Gly Trp Ile Thr Gln Asp Asp Glu Leu Glu Phe Asp Pro Glu
1010 1015 1020

Asp Tyr Ile Ala His Gly Gly Asp Asp Glu Leu Asn Arg Leu Leu
1025 1030 1035

Arg Val Met Pro Glu Arg Arg Trp Arg Val Asp Gly Phe Tyr Asn
 1040 1045 1050

Ala Gly Thr Leu Arg Ile Arg Pro Ala Leu Leu Ser Ala Glu Gln
 1055 1060 1065

Leu Pro Ser Glu Leu Gln Lys Lys Val Ala Asp Lys Thr Leu Ser
 1070 1075 1080

Asp Val Glu Leu Ile Leu Leu Arg Ala Val Gln Arg Gly Leu Phe
 1085 1090 1095

Val Ala Ile Ser Ser Phe Leu Pro Leu Glu Ser Leu Lys Val Ile
 1100 1105 1110

Arg Arg Asn Asn Leu Gly Phe Pro Arg Trp Arg Gly Asn Gly Asn
 1115 1120 1125

Leu Pro Thr Ser Phe Glu Val Arg Ser Ser Ala Leu Arg Ala Leu
 1130 1135 1140

Gly Val Glu Gly Ser Gly Gly Lys Arg Pro Ala Ala Thr Lys Lys
 1145 1150 1155

Ala Gly Gln Ala Lys Lys Lys Lys
 1160 1165

<210> 605

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting mouse HAO-1

<220><223> Description: mH364-7-1

<400> 605

gagcuggcca cugugcgagg uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 606

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting mouse HA0-1
 <220><223> Description: mH364-20-1
 <400> 606
 uucagcaagu ccacuguugu cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 607
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting mouse HA0-1
 <220><223> Description: mH364-7-35
 <400> 607
 gagcuggcca cugugcgagg uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 608
 <211> 110
 <212>
 > RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting mouse HA0-1
 <220><223> Description: mH364-20-35
 <400> 608
 uucagcaagu ccacuguugu cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 609
 <211> 110
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting mouse HAO-1

<220><223> Description: mH364-7-42

<400> 609

gagcuggcca cugugcgagg uaguugagaa ucgaaagauu cuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 610

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6/3-4 sgRNA targeting mouse HAO-1

<220><223> Description: mH364-7-45

<400>

610

gagcuggcca cugugcgagg uaguugagaa ucgaaagauu cuaaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 611

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide

<400> 611

glatgactat tacaggtctg gg 22

<210> 612

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 612
 aaatagcaaa gtttcttacc ta 22
 <210> 613
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 613
 taaatagcaa agtttcttac ct 22
 <210> 614
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 614
 attggcatgc tgactctctg tc 22
 <210> 615
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 615
 gagctggcca ctgtgcgagg ta 22
 <210> 616
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 616

caggtaaagg ggtccacag tc 22

<210> 617

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 617

attctatgta tctattctag ga 22

<210> 618

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 618

ttctatgat ctattctagg at 22

<210> 619

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 619

aaatttcct taggagaaa tg 22

<210> 620

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 620

gtctcaaaa tttcccttag ga 22

<210> 621
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 621
 tgtctcaaaa atttcctta gg 22

<210> 622
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 622
 tgatttggca tttctccta ag 22

<210> 623
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 623
 tcagcaagtc cactgttgc tc 22

<210> 624
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 624
 ttcagcaagt cactgttgc ct 22

<210> 625

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 625
 agtagagaaa tgacaaacct ct 22
 <210> 626
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 626
 aagtagagaa atgacaaacc tc 22
 <210> 627
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 627
 acatccaagc attttctagg ta 22
 <210> 628
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 628
 ttggcatgct gactctctgt cc 22
 <210> 629
 <211> 22

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 629
 cgctggatgc aactgtacat ct 22
 <210> 630
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 630
 tctatgtatc tattctagga tg 22
 <210> 631
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 631
 tctattctag gatgaaaac tt 22
 <210> 632
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 632
 agaaaatgcc aaatcattgg tt 22
 <210> 633
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 633

attgacatca ctgcctattg tt 22

<210> 634

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 634

gtgaccaacc ctaccgttt 20

<210> 635

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 635

gcaagcacct actgtctcgt 20

<210> 636

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 636

gtctaggcat acaatgtttg ctca 24

<210> 637

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer
 <400> 637
 caacgaaggt tccctccagg 20
 <210> 638
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer
 <400> 638
 ggaagggtgt tcgagaagga 20
 <210> 639
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer
 <400> 639
 ctatgcaagg aaaagattg gcc 23
 <210> 640
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer
 <400> 640
 tgcctagac aagctgacac 20
 <210> 641
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 641
cagattctgg aagtggccca 20

<210> 642
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer

<400> 642
tgccttagac aagctgacac 20

<210> 643
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer

<400> 643
ggctggctga aaatagcatc c 21

<210> 644
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer

<400> 644
aggtttggtt ccctcacct 20

<210> 645
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer

<400> 645

tctgcatga aggcatatgg ac 22

<210> 646

<211> 109

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 646

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuu 109

<210> 647

<211> 110

<212> RNA

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 647

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 648

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 648

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 649

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 649

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 650

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 650

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 651

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 651

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 652

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 652

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 653

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 653

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 654

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 654

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 655

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 655

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 656

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 656

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 657
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 657
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60

 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 658
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 658
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 659
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

 <400> 659
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 660
 <400> 660
 000
 <210> 661
 <400> 661

000

<210> 662

<400> 662

000

<210> 663

<400> 663

000

<210> 664

<400> 664

000

<210> 665

<400> 665

000

<210> 666

<400> 666

000

<210> 667

<400> 667

000

<210> 668

<400> 668

000

<210> 669

<400> 669

000

<210> 670

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 670

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 671
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 671
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 672
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 672
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 673
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 673
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 674
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 674
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 675
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 675
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 676
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 676
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 677
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 677
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 678
 <211> 110
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 678
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 679
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 679
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 680
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 680
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 681
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 681
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuucg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 682

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 682

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 683

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 683

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 684

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 684

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 685

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 685
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 686

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 686
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 687

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 687
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 688

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 688
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 689

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 689

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 690

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 690

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 691

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 691

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 692

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 692

cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

 <210> 693
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 693
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

 <210> 694
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 694
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

 <210> 695
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 695
 cuuaggucag ugaagagaag aaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

 <210> 696
 <211> 742
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effectors

<220><223> Description: MG3-6 N-terminal fragment (1-742)

<400> 696

Met Ser Thr Asp Met Lys Asn Tyr Arg Ile Gly Val Asp Val Gly Asp

1 5 10 15

Arg Ser Val Gly Leu Ala Ala Ile Glu Phe Asp Asp Asp Gly Leu Pro

 20 25 30

Ile Gln Lys Leu Ala Leu Val Thr Phe Arg His Asp Gly Gly Leu Asp

 35 40 45

Pro Thr Lys Asn Lys Thr Pro Met Ser Arg Lys Glu Thr Arg Gly Ile

 50 55 60

Ala Arg Arg Thr Met Arg Met Asn Arg Glu Arg Lys Arg Arg Leu Arg

65 70 75 80

Asn Leu Asp Asn Val Leu Glu Asn Leu Gly Tyr Ser Val Pro Glu Gly

 85 90 95

Pro Glu Pro Glu Thr Tyr Glu Ala Trp Thr Ser Arg Ala Leu Leu Ala

 100 105 110

Ser Ile Lys Leu Ala Ser Ala Asp Glu Leu Asn Glu His Leu Val Arg

 115 120 125

Ala Val Arg His Met Ala Arg His Arg Gly Trp Ala Asn Pro Trp Trp

 130 135 140

Ser Leu Asp Gln Leu Glu Lys Ala Ser Gln Glu Pro Ser Glu Thr Phe

145 150 155 160

Glu Ile Ile Leu Ala Arg Ala Arg Glu Leu Phe Gly Glu Lys Val Pro

 165 170 175

Ala Asn Pro Thr Leu Gly Met Leu Gly Ala Leu Ala Ala Asn Asn Glu

 180 185 190

Val Leu Leu Arg Pro Arg Asp Glu Lys Lys Arg Lys Thr Gly Tyr Val

 195 200 205

Arg Gly Thr Pro Leu Met Phe Ala Gln Val Arg Gln Gly Asp Gln Leu

Asp Asp Thr Trp Arg Pro Pro Leu Asp Lys Leu Glu Glu Pro Thr Gly
 465 470 475 480
 Gln Pro Ala Val Asp Arg Val Leu Thr Ile Leu Arg Arg Phe Val Leu
 485 490 495

 Asp Cys Glu Arg Gln Trp Gly Arg Pro Arg Ala Ile Thr Val Glu His
 500 505 510
 Thr Arg Thr Gly Leu Met Gly Pro Thr Gln Arg Gln Lys Ile Leu Asn
 515 520 525
 Glu Gln Lys Lys Asn Arg Ala Asp Asn Glu Arg Ile Arg Asp Glu Leu
 530 535 540
 Arg Glu Ser Gly Val Asp Asn Pro Ser Arg Ala Glu Val Arg Arg His
 545 550 555 560

 Leu Ile Val Gln Glu Gln Glu Cys Gln Cys Leu Tyr Cys Gly Thr Met
 565 570 575
 Ile Thr Thr Thr Thr Ser Glu Leu Asp His Ile Val Pro Arg Ala Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Ser Arg Arg Glu Asn Leu Ala Ala Val Cys Arg Ala Cys
 595 600 605
 Asn Ala Lys Lys Lys Arg Glu Leu Phe Tyr Ala Trp Ala Gly Pro Val
 610 615 620

 Lys Ser Gln Glu Thr Ile Glu Arg Val Arg Gln Leu Lys Ala Phe Lys
 625 630 635 640
 Asp Ser Lys Lys Ala Lys Met Phe Lys Asn Gln Ile Arg Arg Leu Asn
 645 650 655
 Gln Thr Glu Ala Asp Glu Pro Ile Asp Glu Arg Ser Leu Ala Ser Thr
 660 665 670
 Ser Tyr Ala Ala Val Ala Val Arg Glu Arg Leu Glu Gln His Phe Asn
 675 680 685

 Glu Gly Leu Ala Leu Asp Asp Lys Ser Arg Val Val Leu Asp Val Tyr
 690 695 700
 Ala Gly Ala Val Thr Arg Glu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Ile Asp Glu

705 710 715 720
 Arg Ile Leu Leu Arg Gly Glu Arg Asp Lys Asn Arg Phe Asp Val Arg
 725 730 735
 His His Ala Val Asp Ala
 740
 <210> 697
 <211> 276
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <220><223> Category: MG1 chimeric effector
 <220><223> Description: MG1-4 C-terminal fragment
 <400> 697
 Ile Cys Ile Ser Phe Ser Arg Asp Phe Lys Tyr Asp Lys Glu Ile Lys
 1 5 10 15
 Lys Asp Ile Ile Lys Gly Phe Asn Pro Glu Ile Val Lys Asn Ala Ile
 20 25 30
 Asp Lys Ile Met Pro Tyr Pro Tyr Ala Asn Asp Lys Pro Phe Lys Gly

 35 40 45
 Asn Thr Lys Pro Leu Glu Thr Ile Tyr Gly Leu Arg Thr Tyr Gly Asp
 50 55 60
 Lys Ser Tyr Ile Thr Gln Arg Val Glu Leu Asn Ser Ile Asp Lys Lys
 65 70 75 80
 Ala Thr Lys Ile Lys Ser Ile Ile Asp Glu Thr Ile Lys Asn Asp Leu
 85 90 95
 Leu Asn Lys Leu Lys Glu Asn Pro Thr Glu Gln Glu Trp Lys Leu Met

 100 105 110
 Leu Gln Asn Tyr Ile His Pro Lys Lys Gln Thr Lys Val Lys Lys Val
 115 120 125
 Met Ile Ser Val Ser Glu Gly Glu Ile Thr Lys Asp Ser Asn Asn Arg
 130 135 140

Glu Arg Met Gly Glu Phe Val Asp Phe Gly Thr Lys Gly Thr Gln His
 145 150 155 160
 Gln Phe Lys His Ser Lys Arg His Lys Gly Gln Ile Leu Tyr Phe Asn
 165 170 175
 Glu Lys Gly Val Val Glu Val Met Pro Val Tyr Ser Asn Ile Lys Thr
 180 185 190
 Thr Asp Val Lys Asp Lys Leu Gln Asn Met Gly Cys Lys Leu Tyr Asn
 195 200 205
 Lys Gly Gln Met Phe Tyr Ser Gly Cys Leu Val Asp Ile Pro Lys Pro
 210 215 220
 Phe Lys Ala Gly Ser Lys Glu Tyr Pro Ala Gly Arg Tyr Gln Ile Lys
 225 230 235 240
 Thr Ile Arg Ser Asp Lys Val Ala Glu Leu Glu Asp Ala Cys Gly Asn
 245 250 255
 Lys Ile Ser Thr Asn Val Lys Tyr Leu Val Pro Ala Glu Phe Lys Lys
 260 265 270
 Val Glu Ser Lys
 275
 <210> 698
 <211> 289
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <
 <220><223> Category: MGl chimeric effector
 <220><223> Description: MGl-5 C-terminal fragment
 <400> 698
 Met Cys Ile Cys Phe Ala Pro Thr Ser Asn Ala Lys Lys Ala Leu Ser
 1 5 10 15
 Arg Lys Asn Ile Leu Pro Glu Glu Ile Ala Lys Asn Pro Glu Ser Asp
 20 25 30
 Asp Ala Arg Asn Phe Phe Ala Lys Tyr Leu Ala Glu Val Val Pro Thr

Ile

<210> 699

<211> 287

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MGI chimeric effector

<220><223> Description: MGI-6 C-terminal fragment

<400> 699

Met Cys Leu Cys Phe Ala Pro Thr Gly Val Asp Ser Arg Arg Ala Lys

1 5 10 15

Leu Gly Glu Ile Leu Pro Glu Lys Leu Arg Ser Glu Lys Ala Ala Arg

 20 25 30

Glu Phe Phe Lys Ser Tyr Leu Asp Lys Ile Met Pro Val Asp Val Ala

 35 40 45

Pro Lys Lys Pro Arg Leu Glu Asp Gly Ile Tyr Ser Lys Arg Ile Ile

 50 55 60

Gly Gly Lys Ala Cys Met Val Lys Arg Asn Asn Leu Val Asp Leu Ala

65 70 75 80

Tyr Lys Ser Gly Leu Lys Pro Val Phe Asp Ile Pro Thr Leu Ile Lys

 85 90 95

Leu Val Asp Lys Lys Glu Lys Gly Ile Ile Asn Pro Gln Ile Arg Lys

 100 105 110

Met Ile Gly Glu Phe Ala Ala Thr Asn Pro Asp Glu Ser Ala Trp Arg

 115 120 125

Lys Trp Cys Glu Glu Val Arg Leu Pro Ser Lys Ser Gly Leu Gly Ala

 130 135 140

Arg Val Leu Arg Val Leu Val Tyr Tyr Gly Glu Ala Asp Glu Tyr Lys

145 150 155 160

Asp Leu Ser Lys Asp Gly Cys Gly Ala Tyr Arg Lys Gly Asp Gly His

165 170 175
 Lys Gly Gln Val Val Trp Glu Ser Val Asp Gly Lys Tyr Tyr Val Glu

180 185 190
 Pro Val Tyr Val His Ala Ser Lys Ala Gly Val Met Ala Ala Leu Asn

195 200 205
 Ala Asn Pro Lys Lys Lys Arg Ile Cys Gly Met Phe Asn Ser His Cys

210 215 220
 Thr Val Asp Val Gly Asp Val Tyr Asn Asp Arg Gly Asp Phe Ile Leu

225 230 235 240
 Pro Ala Gly Arg Tyr Met Val Asn Thr Ile Leu Thr Thr Gly Arg Cys

245 250 255
 Val Leu Thr Asn Ala Asp Gly Glu Lys Arg Asn Pro Ile Asn Ile Asn

260 265 270
 Tyr Leu Met Arg Ala Gly Met Arg Arg Val Glu Leu Ser Glu Leu

275 280 285

<210> 700

<211> 287

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MGI chimeric effector

<220><223> Description: MG1-7 C-terminal fragment

<400> 700

Met Cys Leu Cys Phe Ala Pro Thr Gly Val Asn Ser Lys Arg Ala Arg

1 5 10 15

Val Asp Met Leu Leu Pro Pro Lys Ile Arg Ser Glu Lys Glu Ala Glu

20 25 30

Leu Phe Phe Arg Lys Tyr Leu Asp Lys Leu Ile Pro Val Asp Val Ala

35 40 45

Pro Lys Lys Pro Lys Leu Glu Asp Gly Ile Tyr Ser Met Arg Thr Val

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MG2 chimeric effector

<220><223> Description: MG2-4 C-terminal fragment

<400> 701

Leu Thr Leu Gly Leu Ala Thr Ala Leu Val Pro Gly Ile Glu Arg Lys

1 5 10 15

Glu Leu Arg Arg Ala Leu Ser Leu Arg Gln Ala Lys Gly Asp Asp Ala

20 25 30

Thr Leu Leu Arg Ser Asp Pro Lys Leu Gly Glu Ala Leu Arg Trp Arg

35 40 45

Thr Glu Asp Arg Phe Glu Ala Ala Pro Leu Ser Gly Lys Leu Glu Ser

50 55 60

Ala Val Arg Arg Ala Leu Ala Glu Gly Arg Val Val Gln His Val Pro

65 70 75 80

Ala Lys Arg Gln Gly Met Lys Val Asp Ser Asn Phe Phe Gly Phe Val

85 90 95

Glu Phe Asp Glu Thr Gly Arg Leu Arg Val Arg Gln Lys Met Arg Ser

100 105 110

Pro Thr Thr Arg Arg Arg Glu Ile Lys Thr Thr Val Lys Asn Gly Lys

115 120 125

Asn Leu His Thr Leu Ser His Leu Ser Leu Asp Pro Lys Ser Trp Leu

130 135 140

Gly Ala Pro Asp His Pro Leu Arg Arg Lys Gln Leu Glu His Gly Leu

145 150 155 160

Arg Thr Glu Asn Asp Leu Ala Asn Pro Lys Leu Gly Asn Ile Arg Gly

165 170 175

Met Leu Pro Ile Arg Glu Asn Trp Gly Ile Ala Leu Ile Thr Lys Asp

180 185 190

Gly Ser Pro Arg Leu Asp Val Ile Pro Tyr Ile Asn Val His Gln Trp

195 200 205
 Leu Glu Val Leu Ala Leu Glu Asn Gly Gly Gly Ser Pro Val Val Leu
 210 215 220
 Arg Lys Gly His Leu Val Gly Phe Asp Ala Glu Lys Cys Pro Glu Glu
 225 230 235 240
 Tyr Cys Gly Ala Trp Met Leu Leu Gly Val Lys Asp Gly Arg Ser Gly
 245 250 255
 Thr Thr Leu Glu Leu Ile Arg Pro Trp Met Val Ala Pro Arg Lys Gly
 260 265 270
 Gly Thr Lys Glu Ser Ser Ala Lys Gln Ala Ile Lys Pro Ala Ser Gly
 275 280 285
 Tyr Ser Glu Lys Glu Gly Lys Ala Ser Gly Val Phe Leu Gln Arg Ser
 290 295 300
 Ala Asp Val Phe Leu Lys Leu Gly Leu Arg Pro Leu Asp His Asp Leu

305 310 315 320
 Thr Gly Ile Ala Ala Phe
 325

<210> 702

<211> 264

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG2 chimeric effector

<220><223> Description: MG2-7 C-terminal fragment

<400> 702

Val Thr Gln Gly Leu Ala Leu Leu Leu Phe Ala Pro Glu Asp Trp Pro
 1 5 10 15
 Leu Leu Val Lys Arg Asn Leu Pro Asp Ser Glu Gln Arg His Leu Lys
 20 25 30
 Ala Arg Tyr Pro Phe Leu Asp Phe Ser Ala Asp Lys His Ile Ser Ile
 35 40 45

Gln Asp Leu Pro Glu Asp Thr Leu His Thr Ile Ser Glu Arg Leu Ala
 50 55 60
 Glu Cys Arg Val Val Arg His Ile Pro Ala Lys Met His Gly Ile Ile
 65 70 75 80
 Val Asp Gln Thr Thr Trp Gly Thr Val Ala Ala Gly Ala Ile Thr Thr
 85 90 95
 Leu Arg Gln Lys Thr Thr Glu Lys Asn Ala Arg Cys Asp Glu Asn Gly
 100 105 110
 Lys Arg Phe Ile Lys Thr Thr Glu Lys Lys Arg Ser Leu Leu Leu Gly
 115 120 125
 Gly Pro Asp Ala Pro Asp Gly Lys Leu Ala Lys Ile Lys Gly Ala Ile
 130 135 140
 Leu Val Thr Glu Asn Trp Gly Cys Ala Leu Asp Pro Ser Pro Thr Val
 145 150 155 160
 Ile Pro His Phe Lys Val Tyr Pro Gln Leu Arg Ala Leu Arg Glu Lys
 165 170 175
 Asn Gly Gly Arg Pro Ile Arg Ile Leu Arg Lys Gly Ser Leu Ile Gln
 180 185 190
 Val Lys Ala Gly Thr Tyr Gln Gly Ile Trp Ser Val Ala Ser Ile Lys
 195 200 205
 Asp Asn Ala Asp Gly Ile Cys Leu Asp Ile Asn Ala Ala Asp Lys Val
 210 215 220
 Lys Leu Glu Asn Arg Ser Asp Asp Ser Lys Ile Asn Val Arg Leu Asp
 225 230 235 240
 Ser Leu Arg Lys Ser Gly Leu Lys Ile Leu Lys Pro Lys Leu Thr Gly
 245 250 255
 Ala Cys Pro Thr Thr Ser Ser Pro
 260
 <210> 703
 <211> 367
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effector

<220><223> Description: MG3-1 C-terminal fragment

<400> 703

Ala Val Leu Thr Leu Gln Ser Pro Ala Ile Tyr Arg Val Leu Leu Thr
1 5 10 15

Arg Val Asn Leu Lys His Glu His Glu Val Thr Gly Glu Ala Pro Glu
 20 25 30

Trp Arg Asp Tyr Glu Gly Ala Asp Gln Ala Glu Lys Val Leu Tyr Arg
 35 40 45

Arg Trp Gln Lys Asn Ile Ala Thr Leu Ala Glu Leu Met Arg Gln Glu
 50 55 60

Ile Glu Asn Asn Arg Val Pro Val Thr Arg Pro Ile Arg Leu Arg Lys
65 70 75 80

Ser Arg Gly Ala Val His Asp Ala Thr Val Met Lys Ala Leu Glu Arg
 85 90 95

Asp Leu Trp Gly Glu Trp Asp Ala Gln Ala Ile Asp Arg Leu Val Asp
 100 105 110

Pro Glu Leu His Leu Ala Leu Arg Lys Leu Phe Thr Ser Thr Lys Ser
 115 120 125

Lys Lys Ile Asp Val Asp Ala Thr Ser Gln Gly Leu Pro Glu Arg Tyr
 130 135 140

Leu Ala Asn Gln Thr Val Gln Leu Phe Asp Ala Asp Ala Pro Ser Val
145 150 155 160

Met Ser Pro Arg Gly Ile Leu Arg Ile Gly Ala Gly Thr His His Ala
 165 170 175

Arg Leu Leu Thr Trp Asp Asp Pro Lys Lys Gly Pro Gln Leu Gly Ile
 180 185 190

Gln Arg Val Phe Ala Ala Glu Phe Gly Glu Ile Leu Lys Asp Ala Ser
 195 200 205

Ser Asn Asp Leu Phe Glu Ala Pro Ile Pro Phe His Thr Met Ser His
 210 215 220

Arg Asp Leu Gln Pro Lys Val Arg Ala Ala Val Glu Gln Gly Leu Thr
 225 230 235 240

Arg Gln Ile Gly Trp Ile Thr Gln Gly Asp Glu Leu Glu Ile Asp Pro
 245 250 255

Ala Asp Phe Val Gly Glu Ala Asn Ala Phe Gly Asn Phe Leu Arg Glu
 260 265 270

Phe Pro Glu Arg Ser Trp Ser Ile Ala Gly Leu Lys Lys Ser Asn Thr
 275 280 285

Ile Val Ile Arg Pro Leu Leu Leu Ser Gln Glu Gly Val Thr Ala Ala
 290 295 300

Ile Ser Pro His Ala Ala Lys Ile Val Glu Asn Gly Ile Glu Leu Ser
 305 310 315 320

Asn Ser Thr Leu Phe Thr Ala Pro Gly Thr Gly Ile Ile Arg Arg Thr
 325 330 335

Gly Leu Gly Arg Pro Arg Trp Asp Ser Gly Pro Ala His Leu Pro Glu
 340 345 350

Ser Phe Asn Val His Ala Arg Met Thr Gln Gln Ser Ala Arg Asp
 355 360 365

<210> 704

<211> 380

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effector

<220><223> Description: MG3-2 C-terminal fragment

<400> 704

Ala Val Leu Thr Leu Leu Asp Pro Ser Val Ala Lys Thr Leu Ala Met
 1 5 10 15

Arg Leu Asp Leu Lys Arg Glu Gln Gln Asp Ser Gly Arg Asp Thr Arg

Lys Ser Phe Pro Glu Thr Gln Trp Thr Ile Asp Gly Phe Asn Asp Pro
 275 280 285

Ser Arg Leu Arg Val Arg Pro Arg Leu Met Ser Leu Glu Gly Arg Asp
 290 295 300

Thr Ile Asp Ala Met Gly His Leu Ser Asp Thr Glu Lys Leu Lys Ile
 305 310 315 320

Lys Gln Ala Leu Ser Lys Gly Leu Met Val Ser Ala Ser Glu Leu Leu
 325 330 335

Ser His Gly Ala Lys Ile Ile Arg Arg Asp His Leu Gly Arg Pro Arg
 340 345 350

Trp Arg Gly Asn Ala Arg Pro Val Ser Ile Glu Leu Glu Gln Val Ala
 355 360 365

Asn Gln Leu Val Asn His Arg Ser Val Asp Gly Gln
 370 375 380

<210> 705

<211> 383

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effector

<220><223> Description: MG3-3 C-terminal fragment

<400> 705

Ala Val Met Thr Leu Leu Asn Pro Ser Val Ala Val Thr Leu Glu Gln

1 5 10 15
 Arg Arg Met Leu Lys Gln Glu Asn Asp Tyr Ser Ser Pro Arg Gly Gln
 20 25 30

His Asp Asn Gly Trp Arg Asp Phe Ile Gly Arg Gly Glu Ala Ser Gln
 35 40 45

Ser Lys Phe Leu His Trp Lys Lys Thr Ala Val Val Leu Ala Asp Leu
 50 55 60

305 310 315 320
 Glu His Asp Leu Ile Ala Leu Val Ile Asn Lys Gly Val Arg Val Val

 325 330 335
 Val Ser Thr Phe Leu Ala Leu Pro Ser Thr Lys Ile Ile Arg Arg Asn

 340 345 350
 Asn Leu Gly Ile Pro Arg Trp Arg Gly Asn Gly His Leu Pro Thr Ser

 355 360 365
 Leu Asp Ile Gln Arg Ala Ala Thr Gln Ala Leu Glu Gly Arg Asp

 370 375 380
 <210> 706

<211> 392

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effector

<220><223> Description: MG3-4 C-terminal fragment

<400> 706

Ala Val Met Thr Leu Leu Asn Arg Ser Val Ala Leu Thr Leu Glu Gln
 1 5 10 15

Arg Ser Gln Leu Arg Arg Ala Phe Tyr Glu Leu Glu Leu Asp Lys Leu
 20 25 30

Asp Arg Asp Gln Leu Lys Pro Gly Glu Asp Trp Arg Asn Phe Thr Gly

 35 40 45
 Leu Tyr Glu Ala Ser Gln Asn Lys Phe Ser Glu Trp Lys Lys Ala Ala

 50 55 60
 Thr Val Leu Gly Asp Leu Leu Ala Glu Ala Ile Glu Asp Asp Ala Ile

65 70 75 80
 Ala Val Val Ser Pro Leu Arg Leu Arg Pro Gln Asn Gly Ser Val His

 85 90 95
 Asp Asp Thr Ile Asn Ala Val Lys Lys Leu Thr Leu Gly Ser Ala Trp

Glu Ser Leu Lys Val Ile Arg Arg Asn Asn Leu Gly Phe Pro Arg Trp

355 360 365

Arg Gly Asn Gly Asn Leu Pro Thr Ser Phe Glu Val Arg Ser Ser Ala

370 375 380

Leu Arg Ala Leu Gly Val Glu Gly

385 390

<210> 707

<211> 381

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effector

<220><223> Description: MG3-7 C-terminal fragment

<400

> 707

Ala Val Leu Thr Leu Leu Asn Arg Ser Val Ala Val Thr Leu Glu Gln

1 5 10 15

Arg Arg Leu Ile Lys Gln Gln Arg Glu Tyr Ser Leu Glu Lys Ser Arg

20 25 30

Arg Glu Arg Asp Asn Val Trp Arg Asp Phe Met Gly Leu Gly Pro Ala

35 40 45

Ala Gln Glu Lys Phe Ala Lys Trp Lys Lys Thr Ala Tyr Val Leu Ala

50 55 60

Asp Ile Ile Lys Glu Ala Ile Ser Asn Asp Ala Ile Pro Val Val Ser

65 70 75 80

Pro Leu Arg Leu Arg Pro Gln Asn Gly Ser Val His Leu Asp Thr Val

85 90 95

Asp Ala Val Leu Glu Arg Thr Ile Gly Asp Ala Trp Thr Val Asp Gln

100 105 110

Val His Arg Ile Val Asn Pro Gln Ile Tyr Leu Ala Phe Ala Gly Tyr

115 120 125

Leu Gly Asn Gln Lys Ala Leu Asp Pro Asp Ser Ser Arg Val Leu Ala
 130 135 140
 Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu Thr Ala Glu Asp Val Ile Tyr Val Phe
 145 150 155 160
 Pro Glu Lys Ala Ala Ser Ile Leu Thr Pro Arg Gly Val Val Lys Ile
 165 170 175
 Gly Glu Ser Val His His Val Arg Leu Tyr Ala Trp Lys Asn Arg Lys
 180 185 190

 Gly Lys Ala Glu Val Gly Met Leu Arg Val Phe Gly Ala Glu Phe Pro
 195 200 205
 Trp Leu Met Arg Glu Ser Gly Val Lys Asp Val Leu Arg Val Pro Ile
 210 215 220
 His Thr Gly Ser Gln Ser Tyr Arg Asp Leu Ser Phe Thr Val Arg Lys
 225 230 235 240
 Asn Ile Glu Lys Gly Glu Ala Ala Glu Ile Gly Trp Leu Thr Gln Asn
 245 250 255

 Glu Glu Leu Glu Phe Asn Pro Glu Ser Tyr Leu Gln Glu Gly Gly Lys
 260 265 270
 Asp Lys Leu Ala Lys Phe Leu Ala Phe Leu Pro Glu Thr Arg Trp Arg
 275 280 285
 Val Asp Gly Phe Pro Met Pro Asp Lys Leu Arg Ile Arg Pro Ala Leu
 290 295 300
 Leu Ser Arg Glu Glu Ile Pro Glu Gly Val Phe Arg Thr Glu Glu Gln
 305 310 315 320

 Ser Leu Leu Glu Glu Ala Leu Thr Lys Gly Leu Ile Ile Ala Thr Lys
 325 330 335
 Gly Leu Leu Ser Leu Pro Asp Val Lys Val Leu Arg Arg Asn Asn Leu
 340 345 350
 Gly Ile Pro Arg Trp Arg Gly Gly Ser Tyr Arg Pro Val Ser Leu Asp
 355 360 365
 Ile Gln Arg Ala Ala Leu Ala Ala Leu Asp Glu Gln Glu
 370 375 380

<210>

708

<211> 392

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<220><223> Category: MG3 chimeric effector

<220><223> Description: MG3-8 C-terminal fragment

<400> 708

Ala Val Met Thr Leu Leu Asn Arg Ser Val Ala Leu Thr Leu Glu Gln

1 5 10 15

Arg Ser Gln Leu Arg Arg Ala Phe Tyr Glu Gln Gly Leu Asp Lys Leu

20 25 30

Asp Arg Asp Gln Leu Lys Pro Glu Glu Asp Trp Arg Asn Phe Ile Gly

35 40 45

Leu Ser Leu Ala Ser Gln Glu Lys Phe Leu Glu Trp Lys Lys Val Thr

50 55 60

Thr Val Leu Gly Asp Leu Leu Ala Glu Ala Ile Glu Asp Asp Ser Ile

65 70 75 80

Ala Val Val Ser Pro Leu Arg Leu Arg Pro Gln Asn Gly Arg Val His

85 90 95

Lys Asp Thr Ile Ala Ala Val Lys Lys Gln Thr Leu Gly Ser Ala Trp

100 105 110

Ser Ala Asp Ala Val Lys Arg Ile Val Asp Pro Glu Ile Tyr Leu Ala

115 120 125

Met Lys Asp Ala Leu Gly Lys Ser Lys Val Leu Pro Glu Asp Ser Ala

130 135 140

Arg Thr Leu Glu Leu Ser Asp Gly Arg Tyr Leu Glu Ala Asp Asp Glu

145 150 155 160

Val Leu Phe Phe Pro Lys Asn Ala Ala Ser Ile Leu Thr Pro Arg Gly

165 170 175

Val Ala Glu Ile Gly Gly Ser Ile His His Ala Arg Leu Tyr Ser Trp
 180 185 190

Leu Thr Lys Lys Gly Glu Leu Lys Ile Gly Met Leu Arg Val Tyr Gly
 195 200 205

Ala Glu Phe Pro Trp Leu Met Arg Glu Ser Gly Ser His Asp Val Leu
 210 215 220

Arg Met Pro Ile His Pro Gly Ser Gln Ser Phe Arg Asp Met Gln Asp
 225 230 235 240

Thr Thr Arg Lys Ala Val Glu Ser Ser Glu Ala Val Glu Phe Ala Trp
 245 250 255

Ile Thr Gln Asn Asp Glu Leu Glu Phe Glu Pro Glu Asp Tyr Ile Ala
 260 265 270

His Gly Gly Lys Asp Glu Leu Arg Gln Phe Leu Glu Phe Met Pro Glu
 275 280 285

Cys Arg Trp Arg Val Asp Gly Phe Lys Lys Asn Tyr Gln Ile Arg Ile
 290 295 300

Arg Pro Ala Met Leu Ser Arg Glu Gln Leu Pro Ser Asp Ile Gln Arg
 305 310 315 320

Arg Leu Glu Ser Lys Thr Leu Thr Glu Asn Glu Ser Leu Leu Leu Lys
 325 330 335

Ala Leu Asp Thr Gly Leu Val Val Ala Ile Gly Gly Leu Leu Pro Leu
 340 345 350

Gly Thr Leu Lys Val Ile Arg Arg Asn Asn Leu Gly Phe Pro Arg Trp
 355 360 365

Arg Gly Asn Gly Asn Leu Pro Thr Ser Phe Glu Val Arg Ser Ser Ala
 370 375 380

Leu Arg Ala Leu Gly Val Glu Gly
 385 390

<210> 709
 <211> 297
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MG4 chimeric effector

<220><223> Description: MG4-2 C-terminal fragment

<400> 709

```

Val Ala Ile Ala Leu Thr Asp Pro Ala Ala Leu Lys Ser Ile Ser Gln
1           5           10           15
Ala Ala Ser Asp Glu Arg Arg Gly Gly Arg Val Ser Phe Gly Ala Val
           20           25           30
Ala Leu Pro Trp Val Asp Phe Ile Gly Asp Val Gln Ala Ala Ile Glu
           35           40           45
Ala Ile Asn Val Ser His Arg Pro Ser Arg Lys Val Asn Gly Ala Leu
           50           55           60
His Glu Glu Thr Phe Tyr Gly Pro Arg Gly Met Asp Gly Asp Gly Arg
65           70           75           80
Pro Thr Gly Tyr Val Gln Arg Lys Pro Val Glu Arg Leu Ser Ala Lys
           85           90           95
Glu Ile Pro Asn Ile Pro Asp Pro Ala Val Arg Glu Ala Val Gln Ala
           100          105          110
Lys Leu Asp Glu Val Gly Gly Thr Pro Ala Gln Ala Phe Lys Asp Pro
           115          120          125
Ala Asn His Pro Val Arg Lys Arg Gly Ile Pro Val His Lys Val Arg
           130          135          140
Leu Arg Leu Asn Ile Asn Pro Val Gln Val Gly Ser Gly Ala Thr Glu
145          150          155          160
Arg His Val Leu Thr Gly Ser Asn His His Met Glu Ile Ile Glu Val
           165          170          175
Arg Asp Ala Lys Gly Gly Lys Lys Trp Thr Gly Arg Leu Val His Arg
           180          185          190
Leu Glu Ala Lys Arg Arg Ala Leu Gly Arg Glu Thr Ile Val Asp Arg
           195          200          205

```

Ala Val Gln Ala Gly Arg Gln Phe Gln Phe Ser Leu Ser Pro Gly Asp
 210 215 220

Met Ile Glu Leu Thr Gly Glu Asp Gly Glu Arg Lys Leu His Val Val
 225 230 235 240

Arg Ser Ile Ser Glu Gly Arg Ile Glu Tyr Val Asp Ala Arg Asp Ala
 245 250 255

Arg Lys Lys Ala Asp Ile Arg Ala Ser Gly Asp Trp Arg Lys Pro Ala
 260 265 270

Val Gly Ser Leu Leu Arg Leu His Cys Arg Lys Val Val Val Thr Pro
 275 280 285

Phe Gly Glu Ile Arg Tyr Ala Asn Asp
 290 295

<210> 710

<211> 309

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><223> Category: MG4 chimeric effector

<220><223> Description: MG4-5 C-terminal fragment

<400> 710

Val Val Ile Ala Leu Thr Gly Pro Gly Thr Val Gln Ala Leu Thr Arg
 1 5 10 15

Ala Ala Leu Arg Ala Lys Glu Leu Gly Arg Arg Leu Phe Val Pro Leu
 20 25 30

Asp Pro Pro Trp Ala Asp Arg Asp Ser Phe Leu Arg Asp Val Arg Ala
 35 40 45

Ser Val Glu Ala Ile Thr Val Ser Tyr Arg Val Asp Arg Lys Val Ser
 50 55 60

Gly Gln Leu His Glu Glu Ser Asn Tyr Ser Lys Pro His Met Thr Val
 65 70 75 80

Asp Asn Lys Gly Asn Leu Val Glu His Arg His Ile Arg Lys Pro Leu

85 90 95
 Lys Asp Met Ser Val Glu Glu Val Glu Ala Ile Val Asp Asp Arg Val
 100 105 110

Arg Lys Leu Val Gln Glu Lys Leu Arg Gln Leu Gly Gln Glu Pro Lys
 115 120 125

Lys Ala Phe Ala Asp Glu Ala Asn His Pro Tyr Phe Thr Thr Ala Asp
 130 135 140

Gly Arg Leu Val Pro Ile His Lys Ala Arg Ile Arg Lys Thr Val Ala
 145 150 155 160
 Thr Ile Thr Val Gly Pro Pro Gln Cys Pro Arg His Val Ala Pro Gly
 165 170 175

Leu Asn His His Ile Glu Ile Leu Ala Val Arg Asp Pro Ala Gly Ala
 180 185 190

Val Thr His Trp Glu Gly Glu Leu Val Ser Leu Phe Glu Ala Ala Arg
 195 200 205

Arg Val Lys Ala Gly Glu Pro Val Val Arg Arg Asn His Gly Pro Asn
 210 215 220

Lys Asp Phe Leu Phe Ser Leu Ala Lys Gly Glu Tyr Val Glu Met Glu
 225 230 235 240

Leu Gln Pro Gly Lys Arg Gln Leu Phe Arg Val Thr Val Ile Ser Ala
 245 250 255

Lys Gln Ile Glu Phe Arg Leu His His Asp Ala Arg Pro Thr Met Leu
 260 265 270

Leu Arg Lys Thr Pro Gly Ala Arg Val Ile Arg Ser Pro Gly Ser Leu
 275 280 285

Phe Lys Ala Lys Ala Arg Lys Val Ala Val Asp Pro Leu Gly Asn Val
 290 295 300

Phe Pro Ala Asn Asp
 305

<210> 711

<211> 319

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><223> Category: MG6 chimeric effector

<220><223> Description: MG6-3 C-terminal fragment

<400> 711

Ile Val Val Ala Phe Thr Asn Arg Ser Thr Leu Lys Arg Leu Ser Asp

1 5 10 15

Glu Asn Lys Arg Ile Gly Thr Ala Glu Trp Met Asp Ala Asp Glu Ser

 20 25 30

Gly Arg Ala Thr Asn Asp Glu Ile Lys Arg Arg Leu Gly Gly Arg Ile

 35 40 45

Asp Leu Ser Glu Pro Trp Pro Thr Phe Arg Asn Asp Val Glu Val Ser

 50 55 60

Ile Asn Asn Ile Thr Val Ser His Arg Val Asn Arg Lys Val Ser Gly

65 70 75 80

Ala Leu His Glu Glu Thr Tyr Tyr Gly Pro Thr Asp Glu Pro Ala Pro

 85 90 95

Lys Asn Lys Glu Met Met Val Leu Arg Lys Ser Val His Gln Leu Ser

 100 105 110

Lys Lys Asp Leu Gly Leu Ile Arg Asp Glu Thr Ile Arg Gln Ile Val

 115 120 125

Asn Asp Glu Val Gln Lys Arg Met Asp Asn Gly Glu Ser Gln Ala Asn

 130 135 140

Ala Ile Ala Ser Leu Glu Ala Asp Pro Pro Phe Ile Ile Ser Pro Lys

145 150 155 160

Ala Lys Val Pro Ile Arg Lys Val Arg Leu Leu Met Lys Lys Asp Pro

 165 170 175

Gln Ile Met His Tyr Phe Glu Asn Lys Asn Gly Glu Glu Asp Arg Ala

 180 185 190

Ala Leu Tyr Gly Asn Asn His His Ile Ala Ile Tyr Glu Thr Ser Asp

Thr Arg Phe Val Pro Arg Lys Gly Lys Gly Glu Leu Phe Glu Gln Thr

65 70 75 80

Val Tyr Arg Tyr Ala Gly Val Asn Ala Gln Gly Lys Asp Ile Ala Arg

85 90 95

Lys Ala Ser Ser Asp Lys Asp Ile Val Met Gly Asn Ala Val Val Ser

100 105 110

Ala Asp Glu Lys Ser Val Ile Lys Val Ser Glu Met Leu Cys Leu Arg

115 120 125

Leu Trp His Asp Pro Glu Ala Lys Lys Gly Gln Gly Ala Trp Tyr Ala

130 135 140

Asp Pro Val Tyr Lys Ala Asp Ile Pro Ala Leu Lys Asp Gly Thr Tyr

145 150 155 160

Val Pro Arg Ile Ala Lys Ala His Thr Gly Arg Lys Ala Trp Lys Pro

165 170 175

Val Pro Glu Ser Ala Met Ala Lys Pro Pro Leu Glu Ile Tyr Phe Gly

180 185 190

Asp Leu Val Gln Ile Gly Asp Phe Ile Gly Arg Phe Ser Gly Tyr Asn

195 200 205

Ile Asn Asn Ala Asn Trp Ser Phe Thr Asp Arg Leu Thr Arg Leu Asn

210 215 220

Leu Ser Cys Pro Thr Val Gly Gln Leu Asn Asn Asp Leu Ser Pro Val

225 230 235 240

Val Ile Arg Glu Ser Pro Ile Lys

245

<210> 713

<211> 354

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><223> Category: MG15 chimeric effector

<220><223> Description: MG15-1 C-terminal fragment

<400> 713

Val Ile Ile Ala Cys Ala Thr Gln Gly Ile Val Asn Lys Val Ser Arg

1 5 10 15

Tyr Ser Lys Ser Arg Glu Leu Trp Asp Tyr Glu Val Asp Met Glu Thr

 20 25 30

Gly Glu Val Leu Gln Lys Lys Asn Lys Asn Thr Lys Asp Val Phe Pro

 35 40 45

Glu Pro Trp Leu Asn Phe Arg Tyr Glu Leu Glu Gln Lys Val Arg Val

 50 55 60

Arg Pro Leu Asp Ile Pro Glu Thr Ala Asp Ile Thr Glu Met Glu Glu

65 70 75 80

Pro Phe Val Ser His Met Pro Asn Arg Lys Ile His Gly Pro Ala His

 85 90 95

Lys Glu Thr Ile Arg Ser Gly Arg Leu Lys Glu Glu Gly Tyr Thr Ile

 100 105 110

Ser Lys Thr Ala Leu Ile Asp Leu Lys Leu Thr Glu Asp Lys Glu Glu

 115 120 125

Ile Lys Gly Tyr Tyr Asn Lys Glu Ser Asp Arg Leu Leu Tyr Glu Ala

 130 135 140

Leu Lys Lys Gln Leu Gln Arg Tyr Gly Gly Lys Ala Lys Glu Ala Phe

145 150 155 160

Lys Glu Pro Phe His Lys Pro Lys Ala Asp Gly Thr Pro Gly Pro Ile

 165 170 175

Val Asn Lys Val Lys Ile Met Glu Lys Ser Thr Met Leu Ile Pro Val

 180 185 190

Asn Gly Gly Lys Gly Leu Ala Ser Asn Gly Asn Met Val Arg Ile Asp

 195 200 205

Val Phe Arg Ala Glu Glu Lys Gly Lys Lys Lys Tyr Tyr Phe Ile Pro

 210 215 220

Val Tyr Val Ala Asp Thr Val Lys Glu Glu Leu Pro Asn Arg Ala Val

Thr Gln Asp Tyr Asn Thr Leu Asn Lys His Leu Tyr Arg Val Gln Lys
 290 295 300

Leu Ser His Ala Asp Tyr Thr Phe Arg Phe His Thr Glu Thr Lys Val
 305 310 315 320

Asp Asp Lys Tyr Asp Gly Val Glu Asn Gly Arg Asn Thr Ser Met Ser
 325 330 335

Leu Lys Ala Leu Val Arg Ile Arg Ser Phe Asn Gly Leu Phe Thr Gln
 340 345 350

Phe Pro His Lys Val Lys Ile Asp Ile Met Gly Arg Ile Thr Lys Ala
 355 360 365

<210> 715

<211> 432

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: MG16 chimeric effector

<220><223> Description: MG16-2 C-terminal fragment

<400> 715

Leu Val Val Ala Cys Thr Lys Gln Ser Tyr Ile Gln Arg Leu Asn Asn
 1 5 10 15

Leu Asn Thr Glu Arg Asp Ala Met Tyr Gln Asp Ile Glu Ala Gln Ser
 20 25 30

Val Glu Trp Lys Glu Lys His Ser Leu Leu Glu Lys Trp Ile Lys Leu
 35 40 45

Gln Pro His Pro Thr Val Ser Glu Val Thr Asp Lys Val Asp Glu Ile
 50 55 60

Leu Val Ser Phe Lys Ala Gly Lys Arg Val Ala Thr Leu Gly Lys Arg
 65 70 75 80

Ser Val Tyr Lys Asn Gly Lys Lys Thr Val Val Gln Asn Asn Ile Ile
 85 90 95

Val Pro Arg Gly Ala Leu Cys Glu Glu Ser Val Tyr Gly Gln Ile Asn
 100 105 110

Leu Ile Glu Lys Asn Lys Pro Ile Lys Tyr Leu Phe Glu Asn Pro Ser
 115 120 125

Leu Ile Phe Lys Pro Tyr Ile Lys Ala Leu Val Glu Glu Arg Leu Lys
 130 135 140

Glu Tyr Asn Gly Asp Thr Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Lys Asn Asn
 145 150 155 160

Pro Ile Tyr Leu Arg Lys Asp Lys Ser Val Val Leu Glu Tyr Gly Thr
 165 170 175

Cys Tyr Lys Lys Glu Tyr Val Lys Lys Tyr Ser Leu Asn Ser Ile Lys
 180 185 190

Ala Lys Asp Val Asp Ser Ile Ile Asp Lys His Ile Arg Glu Val Val
 195 200 205

Arg Gln Arg Leu Glu Asp Asn Asn Asn Asn Glu Lys Ala Ala Phe Ala
 210 215 220

Ser Pro Leu Tyr Ala Asp Lys Gln Lys Gln Ile Pro Ile Lys Ser Val
 225 230 235 240

Arg Cys Thr Thr Gly Ile Asn Ile Ala Ala Pro Val Asn Tyr Asn Glu
 245 250 255

Ser Asn Asp Pro Ile Ser Phe Val Lys Pro Gly Asn Asn His His Ile
 260 265 270

Ala Ile Tyr Lys Asp Lys Asp Gly Lys Arg Gln Glu His Ile Val Thr
 275 280 285

Phe Trp His Ala Val Glu Arg Lys Lys Tyr Gly Met Pro Val Val Ile
 290 295 300

Thr Asn Pro Lys Glu Ile Trp Asp Leu Ile Ile Glu Lys Ser Leu Asp
 305 310 315 320

Leu Pro Glu Ser Phe Leu Asn Cys Leu Pro Asn Ser Asp Trp Asn Tyr
 325 330 335

Glu Ile Ser Met Gln Gln Asn Glu Met Phe Val Met Gly Met Ser Glu

Gln Ser Val Thr Gly Tyr Phe Thr Gln Glu Val Cys Leu Asn Asp Leu
 340 345 350

<210> 717
 <211> 359
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <220><223> Category: MG21 chimeric effector
 <220><223> Description: MG21-1 C-terminal fragment
 <400> 717

Ala Val Ile Ala Cys Ile Thr Pro Gly Met Ile Gln Lys Ile Thr Lys
 1 5 10 15

Tyr Ala Gln Asn His Glu Arg Phe Tyr Ala Thr Ala Lys Gly Tyr Val
 20 25 30

Asp Ile Glu Thr Gly Glu Val Leu Thr Arg Ser Glu Tyr Glu Ala Met
 35 40 45

Asp Asp Ile Arg Phe Pro Glu Pro Trp Pro Gly Phe Arg Ser Glu Leu
 50 55 60

Glu Ala Arg Val Ser Glu His Pro Gln Glu Ala Ile Ala Arg Leu Lys
 65 70 75 80

Leu Pro His Tyr Glu Asn Ser Glu Glu Ile Arg Pro Ile Phe Val Ser
 85 90 95

Arg Met Pro Asn His Lys Val Thr Gly Ala Ala His Leu Glu Thr Ile
 100 105 110

Arg Ser Lys Lys Gly Gly Ala Gly Ser Thr Val Thr Lys Thr Ala Leu
 115 120 125

Pro Asp Leu Lys Leu Asp Lys Asn Gly Glu Ile Ala Gly Tyr Tyr Arg
 130 135 140

Lys Glu Asp Asp Pro Leu Leu Tyr Glu Ala Leu Lys Ala Arg Leu Lys
 145 150 155 160

Ala Phe Gly Gly Asp Gly Lys Lys Ala Phe Ala Glu Pro Phe His Lys

<220><223> Description: MG22-1 C-terminal fragment

<400> 718

Ile Ala Ile Ala Cys Ile Asn Arg Ser Ile Val Asn Tyr Leu Asn Asn

1 5 10 15
Ala Ala Ala Asn Gln Thr Glu Arg Glu Asp Leu Arg Arg Ala Val Cys

 20 25 30
Ile Pro Glu Arg Asn Gly Gln Thr Lys Arg Gln Leu Arg Ser Pro Trp

 35 40 45
His Cys Phe Ala Arg Asp Ala Glu Asn Ala Leu Arg Gln Ile Val Val

 50 55 60
Ser Phe Lys Gln Asn Leu Arg Val Ala Thr Lys Ala Thr Asn Ser Tyr

65 70 75 80
Glu Cys Phe Asp Thr Ala Ser Gly Lys Lys Ile Arg Lys His Gln Ser

 85 90 95
Asn Arg Glu His Tyr Ala Ile Arg Lys Pro Leu His Lys Asp Ser Val

 100 105 110
Tyr Gly Glu Val Ile Leu Thr Ser Ile Ala Ser Val Asn Leu Lys Lys

 115 120 125
Ala Leu Leu Lys Ala Glu Arg Ile Leu Asp Lys Arg Leu Lys Glu Lys

 130 135 140
Ile Phe Glu Leu Arg Lys Leu Tyr Asn Tyr Ser Asn Lys Gln Ile Glu

145 150 155 160
Glu His Leu Thr Lys Val Cys Ile Asn Cys Pro Glu Trp Lys Asn Tyr

 165 170 175
Asp Phe Lys Lys Ile Ala Val Arg Ile Leu Ser Asn Asp Ala Asp Ala

 180 185 190
Thr His Ile Val Ala Ile Arg Lys Pro Leu Asp Glu Ser Phe Asp Glu

 195 200 205
Val Lys Ile Asn Thr Ile Thr Asp Thr Gly Ile Gln Lys Ile Leu Leu

 210 215 220
Asn His Leu Ser Arg Tyr Ala Asp Asp Pro Lys Lys Ala Phe Ser Pro

225 230 235 240
 Glu Gly Ile Glu Asp Met Asn Ala Asn Ile Ala Ser Leu Asn Gly Gly
 245 250 255
 Lys Gln His Leu Pro Ile Tyr Lys Val Arg Val Ser Glu Lys Asp Asn

 260 265 270
 Gly Gly Tyr Phe Pro Ile Gly Gln Lys Gly Asn Arg Pro Lys Lys Tyr
 275 280 285
 Val Thr Thr Ala Lys Asp Thr Asn Leu Phe Phe Ala Val Tyr Ala Asp
 290 295 300
 Ser Lys Gly Lys Arg Ser Tyr Lys Thr Ile Asp Leu Arg Thr Ala Ile
 305 310 315 320
 Glu Cys Arg Lys Gln Gly Leu Ser Val Ala Pro Ser Ile Asn Glu Lys

 325 330 335
 Gly Asp Lys Leu Leu Phe Thr Leu Ser Pro Asn Asp Leu Val Tyr Met
 340 345 350
 Pro Ser Glu Gly Glu Glu Ala Asn Gly Phe Ala Ile Asp Asn Asn Leu
 355 360 365
 Asn Lys Asp Gln Ile Tyr Lys Met Val Ser Ala Asn Asn Lys Gln Cys
 370 375 380
 Phe Phe Ile Pro His Thr Val Ala Asp Phe Ile Ser Arg Gly Glu Glu

 385 390 395 400
 Tyr Asn Ser His Asn Lys Ile Glu Leu Thr Glu Asp Arg Arg Ser Ile
 405 410 415
 Lys Glu His Cys Val Pro Leu Lys Val Asn Arg Leu Gly Lys
 420 425 430

 <210> 719
 <211> 370
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <220><223> Category: MG23 chimeric effector

<220><223

> Description: MG23-1 C-terminal fragment

<400> 719

Tyr Leu Asn Ile Val Val Gly Asn Thr Tyr Ser Thr Lys Phe Thr Asn
 1 5 10 15
 Asn Pro Leu Asn Phe Ile Lys Ala Gly Ala Lys Arg Pro Gln Asp Asn
 20 25 30
 Gln Phe Lys Tyr Asn Met Asp Lys Ile Phe Asp Tyr Asn Val Ile Ser
 35 40 45
 Arg Gly Glu Arg Ala Trp Ile Ala Gly Ser Asp Gly Ser Ile Cys Thr

 50 55 60
 Val Lys Lys Phe Met Ser Arg Asn Thr Val Leu Ile Thr Arg Lys Ala
 65 70 75 80
 Lys Glu Val His Gly Ala Leu Ser Asn Lys Ala Thr Ile Trp Gly Lys
 85 90 95
 Asn Val Ala Lys Pro Gly Ala Tyr Leu Pro Val Lys Ser Thr Asp Leu
 100 105 110
 Lys Ala Gln Asp Val Thr Lys Tyr Gly Gly Ile Thr Ser Ile Ala Asn

 115 120 125
 Ser Gly Tyr Thr Leu Ala Glu Tyr Lys Val Asn Gly Lys Thr Thr Arg
 130 135 140
 Ser Leu Glu Ala Leu Pro Val Tyr Leu Gly Arg Ala Glu Gln Leu Thr
 145 150 155 160
 Glu Lys Thr Val Val Asp Tyr Leu Ser Ser Ser Leu Gln Glu Ser Ser
 165 170 175
 Lys Lys Lys Ile Glu Asp Ile Gln Val Arg Lys Leu Phe Ile Pro Gln

 180 185 190
 Gly Ser Lys Val Lys Ile Asp Gly Phe Cys Tyr Tyr Leu Gly Gly Lys
 195 200 205
 Thr Gly Asp Ser Ile Tyr Leu Asn Asn Ala Val Pro Leu Tyr Leu Ser
 210 215 220
 Ser Thr Ser Glu Glu Tyr Leu Arg Lys Leu Leu Lys Ala Val Glu Asn

225 230 235 240
 Asn Asn Tyr Asn Glu Arg Asp Lys Asn Gly Gln Ile Ile Leu Thr Ala

 245 250 255
 Pro Lys Asn Val Gln Leu Leu Ser Ser Ile Phe Asp Lys Leu Arg Ser

 260 265 270
 Lys Pro Phe Ser Asn Asn Lys Trp Asn Ile Tyr Phe Ser Ile Val Asn

 275 280 285
 Gly Lys Glu Thr Lys Val Glu Gln Leu Phe Ser Lys Leu Ser Ile Asp

 290 295 300
 Lys Gln Ala Glu Val Ile Ser Gln Ile Val Ile Trp Ile Asn Ser Ser

305 310 315 320
 Arg Gln Asn Val Asn Leu Ser Leu Ile Gly Gly Ser Ala His Ser Gly

 325 330 335
 Thr Gln Ala Leu Ser Lys Thr Val Ser Arg Leu Asn Glu Cys Met Leu

 340 345 350
 Ile Ser Gln Ser Ile Thr Gly Ile Tyr Glu His Ser Val Asp Leu Leu

 355 360 365
 Thr Ile

370

<210> 720

<211> 348

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<220><223> Category: SaCas chimeric effector

<220><223> Description: SaCas9 C-terminal fragment

<400> 720

Leu Ile Ile Ala Asn Ala Asp Phe Ile Phe Lys Glu Trp Lys Lys Leu
 1 5 10 15

Asp Lys Ala Lys Lys Val Met Glu Asn Gln Met Phe Glu Glu Lys Gln
 20 25 30

Ala Glu Ser Met Pro Glu Ile Glu Thr Glu Gln Glu Tyr Lys Glu Ile
 35 40 45
 Phe Ile Thr Pro His Gln Ile Lys His Ile Lys Asp Phe Lys Asp Tyr
 50 55 60
 Lys Tyr Ser His Arg Val Asp Lys Lys Pro Asn Arg Glu Leu Ile Asn
 65 70 75 80
 Asp Thr Leu Tyr Ser Thr Arg Lys Asp Asp Lys Gly Asn Thr Leu Ile
 85 90 95
 Val Asn Asn Leu Asn Gly Leu Tyr Asp Lys Asp Asn Asp Lys Leu Lys
 100 105 110
 Lys Leu Ile Asn Lys Ser Pro Glu Lys Leu Leu Met Tyr His His Asp
 115 120 125
 Pro Gln Thr Tyr Gln Lys Leu Lys Leu Ile Met Glu Gln Tyr Gly Asp
 130 135 140
 Glu Lys Asn Pro Leu Tyr Lys Tyr Tyr Glu Glu Thr Gly Asn Tyr Leu
 145 150 155 160
 Thr Lys Tyr Ser Lys Lys Asp Asn Gly Pro Val Ile Lys Lys Ile Lys
 165 170 175
 Tyr Tyr Gly Asn Lys Leu Asn Ala His Leu Asp Ile Thr Asp Asp Tyr
 180 185 190
 Pro Asn Ser Arg Asn Lys Val Val Lys Leu Ser Leu Lys Pro Tyr Arg
 195 200 205
 Phe Asp Val Tyr Leu Asp Asn Gly Val Tyr Lys Phe Val Thr Val Lys
 210 215 220
 Asn Leu Asp Val Ile Lys Lys Glu Asn Tyr Tyr Glu Val Asn Ser Lys
 225 230 235 240
 Cys Tyr Glu Glu Ala Lys Lys Leu Lys Lys Ile Ser Asn Gln Ala Glu
 245 250 255
 Phe Ile Ala Ser Phe Tyr Asn Asn Asp Leu Ile Lys Ile Asn Gly Glu
 260 265 270
 Leu Tyr Arg Val Ile Gly Val Asn Asn Asp Leu Leu Asn Arg Ile Glu

Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln Ser Ile Thr Gly Leu
 355 360 365

Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu Gly Gly Asp
 370 375 380

<210> 722

<211> 110

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<220><223> Category: MG3-6_3-4 guide sgRNA scaffold

<220><223> Description: MG3-6_3-4 guide sequence scaffold

<220><221> modified_base

<222> (1)..(22)

<223> a, c, t, g, unknown or other

<400> 722

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngttgagaa tcgaaagatt cttaataagg catccttcg 60

atgctgactt ctcaccgtcc gttttccaat aggagcgggc ggtatgtttt 110

<210> 723

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide

<400> 723

gagcuggcca cugugcgagg uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 724

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 724

uucagcaagu ccacuguugu cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 725

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 725

gagcuggcca cugugcgagg uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 726

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 726

uucagcaagu ccacuguugu cuguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 727

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 727

gtaaagaaaa acaaggaatg taat 24

<210> 728

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 primer
 <400> 728
 atctgtcaac ttctgtttta ggac 24
 <210> 729
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 primer
 <400> 729
 gcaaagtaga gaaatgacaa acc 23
 <210> 730
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223>
 Description of Artificial Sequence: Synthetic
 primer
 <400> 730
 accaagtcag atataaactg tct 23
 <210> 731
 <211> 110
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide
 <400> 731
 gagcuggcca cugugcgagg uaguugagaa ucgaaagau cuuaauaagg cauccuuccg 60
 augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110
 <210> 732
 <211> 110
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 732

gagcuggcca cugugcgagg uaguugagaa ucgaaagauu cuuaauaagg cauccuuccg 60

augcugacuu cucaccgucc guuuuccaau aggagcgggc gguauguuuu 110

<210> 733

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 733

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 734

<211> 88

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 734

guugagauc gaaagauucu uaauaaggca uccuuccgau gcugacuucu caccguccgu 60

uuuccaaug gagcgggcgg uauguuuu 88