(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-518552
(P2025-518552A)
(43)公表日　令和7年6月17日(2025.6.17)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
C07K	*19/00 (2006.01)*	C07K	19/00	ZNA　4B065
C12N	*15/62 (2006.01)*	C12N	15/62	Z　4H045
C12N	*15/13 (2006.01)*	C12N	15/13	
C12N	*15/12 (2006.01)*	C12N	15/12	
C07K	*14/725 (2006.01)*	C07K	14/725	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全222頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-568584(P2024-568584)
(86)(22)出願日　令和5年5月16日(2023.5.16)
(85)翻訳文提出日　令和7年1月20日(2025.1.20)
(86)国際出願番号　PCT/US2023/022439
(87)国際公開番号　WO2023/225035
(87)国際公開日　令和5年11月23日(2023.11.23)
(31)優先権主張番号　63/342,472
(32)優先日　令和4年5月16日(2022.5.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV
最終頁に続く

(71)出願人　524351925
セリントラ・セラピューティクス・エスア
ベルギー・１４３５・モン－サン－ギベール・リュ・エドゥアール・ブラン・２
(74)代理人　100108453
弁理士　村山 靖彦
(74)代理人　100188558
弁理士　飯田 雅人
(74)代理人　100110364
弁理士　実広 信哉
(72)発明者　タニヤ・ウォーネック
アメリカ合衆国・コロラド・８０３０１・ボールダー・ウォーターストーン・ドライブ・５３８８
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　細胞を操作するための組成物及び方法

(57)【要約】
ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、ゲノムＤＮＡ切断、塩基編集、エピゲノム編集、及びゲノムイメージングなど、様々な目的のために操作されている。本明細書に開示される本発明は、１つ以上のＣＡＲ又はその部分を含む１つ以上のポリペプチドを含むように、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムを用いてヒト細胞のゲノムを操作するための組成物、方法、及び／又はキットを含む。

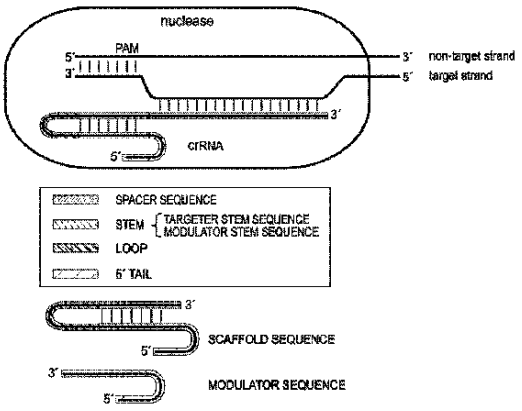


Figure 1A

【特許請求の範囲】
【請求項１】
配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５、又は１００％同一であるポリペプチド。
【請求項２】
前記ポリペプチドが、配列番号８６～１０４、１１６～１２４、又は２０４４～２０７０のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５、又は１００％同一である、請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項３】
前記配列同一性が、少なくとも９０％である、請求項１又は２に記載のポリペプチド。
【請求項４】
前記配列同一性が、少なくとも９５％である、請求項１又は２に記載のポリペプチド。
【請求項５】
前記配列同一性が、少なくとも９９％である、請求項１又は２に記載のポリペプチド。
【請求項６】
前記配列同一性が、少なくとも９９．５％である、請求項１又は２に記載のポリペプチド。
【請求項７】
前記配列同一性が、１００％である、請求項１又は２に記載のポリペプチド。
【請求項８】
請求項１～７のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。
【請求項９】
（ａ）請求項１～７のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；及び／又は
（ｂ）請求項１～７のいずれか一項に記載のポリペプチド
を含む細胞。
【請求項１０】
第１のポリペプチドをコードする第１の配列を含む第１の部分を含むポリヌクレオチドであって、前記第１のポリペプチドが、第１のキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）又はその部分を含む、ポリヌクレオチド。
【請求項１１】
前記ポリヌクレオチドが、前記第１のＣＡＲ又はその部分と異なる第２のＣＡＲ又はその部分を含む第２のポリペプチドをコードする第２の配列を含む第２の部分をさらに含む、請求項１０に記載のポリヌクレオチド。
【請求項１２】
前記第１及び第２のポリペプチドが、別個のポリペプチドである、請求項１１に記載のポリヌクレオチド。
【請求項１３】
前記第１及び第２のポリペプチドが連結される、請求項１１に記載のポリヌクレオチド。
【請求項１４】
前記第１及び第２のポリペプチドが、１つ以上のアミノ酸によって連結される、請求項１３に記載のポリヌクレオチド。
【請求項１５】
前記第１のＣＡＲ又はその部分が、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合する、請求項１０～１４のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。
【請求項１６】

前記第２のＣＡＲ又はその部分が、前記第１のＣＡＲ又はその部分の結合パートナーと異なる、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合する、請求項１４に記載のポリヌクレオチド。

【請求項１７】

前記第２のＣＡＲ又はその部分が、同じ結合パートナーにおける異なる側に結合する、請求項１４に記載のポリヌクレオチド。

【請求項１８】

前記第１又は第２のポリペプチドが、配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、若しくは９９．５％同一であるか、又は１００％同一であるポリペプチドを含む、請求項１０～１７のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項１９】

前記第１又は第２のポリペプチドが、配列番号８６～１０４、１１６～１２４、又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一であるポリペプチドを含む、請求項１８に記載のポリヌクレオチド。

【請求項２０】

請求項１０～１９のいずれか一項に記載の第１のポリヌクレオチドを含む細胞。

【請求項２１】

前記細胞が、請求項１０～１９のいずれか一項に記載の第２のポリヌクレオチドをさらに含み、前記第２のポリヌクレオチドが、前記第１のポリヌクレオチドと異なる、請求項２０に記載の細胞。

【請求項２２】

前記第１及び／又は第２のポリヌクレオチドが、前記第１及び／又は第２のポリペプチドをコードする前記第１及び／又は第２の配列に隣接する相同性アームをさらに含む、請求項２０又は２１に記載の細胞。

【請求項２３】

核酸誘導型ヌクレアーゼをさらに含む、請求項２０又は２２に記載の細胞。

【請求項２４】

前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、操作された非天然ヌクレアーゼを含む、請求項２３に記載の細胞。

【請求項２５】

前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、クラス１又はクラス２ヌクレアーゼを含む、請求項２３又は２４に記載の細胞。

【請求項２６】

前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＩＩ型又はＶ型ヌクレアーゼを含む、請求項２５に記載の細胞。

【請求項２７】

前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、Ｖ－Ａ、Ｖ－Ｂ、Ｖ－Ｃ、Ｖ－Ｄ、又はＶ－Ｅ型ヌクレアーゼを含む、請求項２６に記載の細胞。

【請求項２８】

前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、Ｖ－Ａ型ヌクレアーゼを含む、請求項２７に記載の細胞。

【請求項２９】

前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤヌクレアーゼ、ＡＲＴヌクレアーゼ、又はＡＢＷヌクレアーゼを含む、請求項２８に記載の細胞。

【請求項３０】

前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ、ＡＲＴ、又はＡＢＷヌクレアーゼのアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９％同一であるか、又は１００％同一であ

るアミノ酸配列を含む、請求項２９に記載の細胞。
【請求項３１】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ１、ＭＡＤ２、ＭＡＤ３、ＭＡＤ４、ＭＡＤ５、ＭＡＤ６、ＭＡＤ７、ＭＡＤ８、ＭＡＤ９、ＭＡＤ１０、ＭＡＤ１１、ＭＡＤ１２、ＭＡＤ１３、ＭＡＤ１４、ＭＡＤ１５、ＭＡＤ１６、ＭＡＤ１７、ＭＡＤ１８、ＭＡＤ１９、又はＭＡＤ２０ヌクレアーゼを含む、請求項２９に記載の細胞。
【請求項３２】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＡＲＴ１、ＡＲＴ２、ＡＲＴ３、ＡＲＴ４、ＡＲＴ５、ＡＲＴ６、ＡＲＴ７、ＡＲＴ８、ＡＲＴ９、ＡＲＴ１０、ＡＲＴ１１、ＡＲＴ１１＊、ＡＲＴ１２、ＡＲＴ１３、ＡＲＴ１４、ＡＲＴ１５、ＡＲＴ１６、ＡＲＴ１７、ＡＲＴ１８、ＡＲＴ１９、ＡＲＴ２０、ＡＲＴ２１、ＡＲＴ２２、ＡＲＴ２３、ＡＲＴ２４、ＡＲＴ２５、ＡＲＴ２６、ＡＲＴ２７、ＡＲＴ２８、ＡＲＴ２９、ＡＲＴ３０、ＡＲＴ３１、ＡＲＴ３２、ＡＲＴ３３、ＡＲＴ３４、又はＡＲＴ３５ヌクレアーゼを含む、請求項２９に記載の細胞。
【請求項３３】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ２、ＭＡＤ７、ＡＲＴ２、ＡＲＴ１１、又はＡＲＴ１１＊のアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、請求項２９に記載の細胞。
【請求項３４】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、配列番号３７のアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９％同一であるか、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、請求項２９に記載の細胞。
【請求項３５】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、核局在化シグナル（ＮＬＳ）、精製タグ、及び／又は切断部位をさらに含む、請求項２４～３４のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項３６】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、少なくとも４つのＮＬＳを含む、請求項３５に記載の細胞。
【請求項３７】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、１つのＮ末端及び３つのＣ末端ＮＬＳを含む、請求項３６に記載の細胞。
【請求項３８】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、少なくとも５つのＮＬＳを含む、請求項３５に記載の細胞。
【請求項３９】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、５つのＮ末端ＮＬＳを含む、請求項３８に記載の細胞。
【請求項４０】
前記ＮＬＳが、配列番号４０～５６のいずれか１つを含む、請求項３５～３９のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項４１】
前記ＮＬＳが、配列番号４０、５１、及び５６のいずれか１つを含む、請求項４０に記載の細胞。
【請求項４２】
ガイド核酸（ｇＮＡ）をさらに含む、請求項２０～４１のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項４３】
前記ｇＮＡが、
（ｉ）ターゲッターステム配列及びスペーサー配列を含むターゲッター核酸；及び
（ｉｉ）前記ターゲッターステム配列に相補的なモジュレーターステム配列、及び、任意に、５’配列を含むモジュレーター核酸

を含む、請求項４２に記載の細胞。
【請求項４４】
前記ｇＮＡが、操作された非天然ガイド核酸である、請求項４３に記載の細胞。
【請求項４５】
前記ｇＮＡが、単一のポリヌクレオチドを含む、請求項４３又は４４に記載の細胞。
【請求項４６】
前記ｇＮＡが、デュアルガイド核酸を含み、ここで、前記ターゲッター核酸及び前記モジュレーター核酸が、別個のポリヌクレオチドである、請求項４３又は４４に記載の細胞。
【請求項４７】
前記デュアルｇＮＡが、天然システム中で、ｔｒａｃｒＲＮＡの非存在下で単一のｃｒＲＮＡによって活性化される核酸誘導型ヌクレアーゼに結合し、それを活性化することが可能である、請求項４６に記載の細胞。
【請求項４８】
前記ｇＮＡ及び前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体を形成する、請求項４２～４７のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項４９】
前記ｇＮＡが、ドナーテンプレートリクルート配列をさらに含む、請求項４２～４８のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項５０】
前記第１及び／又は第２のポリヌクレオチドが、前記細胞のゲノムにおける第１及び／又は第２の位置に組み込まれる、請求項２０～４９のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項５１】
前記細胞の前記ゲノムにおける前記第１及び／又は第２の位置が、セーフハーバー部位又はＨＬＡ－１、ＨＬＡ－２、若しくはＴＲＣタンパク質のサブユニットをコードする遺伝子を含む、請求項５０に記載の細胞。
【請求項５２】
前記細胞の前記ゲノムの前記位置が、ＴＲＡＣ遺伝子を含む、請求項５０に記載の細胞。
【請求項５３】
前記スペーサー配列が、前記細胞の前記ゲノムにおける前記第１及び／又は第２の位置内又はその近くで標的配列に少なくとも部分的に相補的である、請求項５０～５２のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項５４】
前記スペーサー配列が、前記細胞の前記ゲノムにおける前記第１及び／又は第２の位置内又はその近くで前記標的配列と少なくとも５０、６０、７０、８０、９０、９５、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一である、請求項５３に記載の細胞。
【請求項５５】
前記第１及び／又は第２のポリペプチドが、発現される、請求項２０～５４のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項５６】
前記第１及び第２のポリペプチドが、前記細胞の表面上で発現される、請求項５５に記載の細胞。
【請求項５７】
前記第２のポリペプチドの発現が、前記細胞の状態の変化を示すシグナルによって開始される、請求項５５に記載の細胞。
【請求項５８】
前記第１のポリペプチドへの結合パートナーの結合が、前記細胞の状態の変化を示す前記シグナルを開始させる、請求項５７に記載の細胞。
【請求項５９】

前記第１のポリペプチドが、前記細胞の表面上で発現され、前記第２のポリペプチドが分泌される、請求項５５に記載の細胞。
【請求項６０】
前記第２のポリペプチドの発現が、前記細胞の状態の変化を示すシグナルによって開始される、請求項５９に記載の細胞。
【請求項６１】
前記第１のポリペプチドへの結合パートナーの結合が、前記細胞の状態の変化を示す前記シグナルを開始させる、請求項６０に記載の細胞。
【請求項６２】
前記細胞が、ヒト細胞である、請求項２０～６１のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項６３】
前記ヒト細胞が、免疫細胞又は幹細胞である、請求項６２に記載の細胞。
【請求項６４】
前記ヒト細胞が、好中球、好酸球、好塩基球、肥満細胞、単球、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、又はリンパ球を含む免疫細胞である、請求項６２に記載の細胞。
【請求項６５】
前記ヒト細胞が、Ｔ細胞である、請求項６２に記載の細胞。
【請求項６６】
前記ヒト細胞が、ヒト万能性、多能性幹細胞、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞、造血幹細胞、ＣＤ３４＋細胞である幹細胞である、請求項６２に記載の細胞。
【請求項６７】
（ａ）第１のＣＡＲ又はその部分を含む第１のポリペプチドをコードする第１の配列を含む第１の部分を含む第１のポリヌクレオチドを含む細胞。
【請求項６８】
（ｂ）核酸誘導型ヌクレアーゼシステム、いずれか／又は前記システムの１つ以上の部分をコードする１つ以上のポリヌクレオチドをさらに含み、前記システムが、
（ｉ）核酸誘導型ヌクレアーゼ；及び
（ｉｉ）前記核酸誘導型ヌクレアーゼと適合するガイド核酸（ｇＮＡ）
を含む、請求項６７に記載の細胞。
【請求項６９】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、Ｖ型核酸誘導型ヌクレアーゼを含む、請求項６８に記載の細胞。
【請求項７０】
前記第１のポリヌクレオチドが、ドナーテンプレートを含む、請求項６７～６９のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項７１】
前記第１のポリヌクレオチドが、第２のＣＡＲ又はその部分を含む第２のポリペプチドをコードする第２の配列を含む第２の部分をさらに含む、請求項６７～７０のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項７２】
前記細胞が、第２のＣＡＲ又はその部分を含む第２のポリペプチドをコードする第２の配列を含む第２のポリヌクレオチドをさらに含む、請求項６７～７０のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項７３】
前記第２のＣＡＲ又はその部分が、前記第１のＣＡＲ又はその部分と異なる、請求項７１又は７２に記載の細胞。
【請求項７４】
前記第１及び／又は第２のポリヌクレオチドの少なくとも一部が、前記細胞のゲノムにおける位置内に挿入される、請求項６７～７３のいずれか一項に記載の細胞。

【請求項７５】
前記第１のポリヌクレオチドが、前記細胞の前記ゲノムにおける第１の位置内に挿入され、前記第２のポリヌクレオチドが、前記細胞の前記ゲノムにおける第２の位置内に挿入され、前記第１の位置が、前記第２の位置と異なる、請求項７４に記載の細胞。
【請求項７６】
前記第１のＣＡＲ又はその部分が、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するポリペプチドを含む、請求項６７～７５のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項７７】
前記第２のＣＡＲ又はその部分が、前記第１のＣＡＲ又はその部分の結合パートナーと異なる、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するポリペプチドを含む、請求項７６に記載の細胞。
【請求項７８】
前記第１のＣＡＲ又はその部分が、配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一であるポリペプチドを含む、請求項７６又は７７に記載の細胞。
【請求項７９】
前記第１及び／又は第２のポリペプチドが、発現される、請求項６７～７８のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項８０】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、操作された非天然ヌクレアーゼを含む、請求項６７～７９のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項８１】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、Ｖ－Ａ、Ｖ－Ｂ、Ｖ－Ｃ、Ｖ－Ｄ、又はＶ－Ｅ型ヌクレアーゼを含む、請求項６７～８０のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項８２】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、Ｖ－Ａ型ヌクレアーゼを含む、請求項８１に記載の細胞。
【請求項８３】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤヌクレアーゼ、ＡＲＴヌクレアーゼ、又はＡＢＷヌクレアーゼを含む、請求項８２に記載の細胞。
【請求項８４】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ、ＡＲＴ、又はＡＢＷヌクレアーゼのアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９％同一であるか、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、請求項８３に記載の細胞。
【請求項８５】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ１、ＭＡＤ２、ＭＡＤ３、ＭＡＤ４、ＭＡＤ５、ＭＡＤ６、ＭＡＤ７、ＭＡＤ８、ＭＡＤ９、ＭＡＤ１０、ＭＡＤ１１、ＭＡＤ１２、ＭＡＤ１３、ＭＡＤ１４、ＭＡＤ１５、ＭＡＤ１６、ＭＡＤ１７、ＭＡＤ１８、ＭＡＤ１９、又はＭＡＤ２０ヌクレアーゼを含む、請求項８３に記載の細胞。
【請求項８６】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＡＲＴ１、ＡＲＴ２、ＡＲＴ３、ＡＲＴ４、ＡＲＴ５、ＡＲＴ６、ＡＲＴ７、ＡＲＴ８、ＡＲＴ９、ＡＲＴ１０、ＡＲＴ１１、ＡＲＴ１１＊、ＡＲＴ１２、ＡＲＴ１３、ＡＲＴ１４、ＡＲＴ１５、ＡＲＴ１６、ＡＲＴ１７、ＡＲＴ１８、ＡＲＴ１９、ＡＲＴ２０、ＡＲＴ２１、ＡＲＴ２２、ＡＲＴ２３、ＡＲＴ２４、ＡＲＴ２５、ＡＲＴ２６、ＡＲＴ２７、ＡＲＴ２８、ＡＲＴ２９、ＡＲＴ３０、ＡＲＴ３１、ＡＲＴ３２、ＡＲＴ３３、ＡＲＴ３４、又はＡＲＴ３５ヌクレアーゼを含む、請求項８３

に記載の細胞。
【請求項８７】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ２、ＭＡＤ７、ＡＲＴ２、ＡＲＴ１１、又はＡＲＴ１１＊のアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９％同一であるか、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、請求項８３に記載の細胞。
【請求項８８】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、配列番号３７のアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９％同一であるか、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、請求項８３に記載の細胞。
【請求項８９】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、核局在化シグナル（ＮＬＳ）、精製タグ、及び／又は切断部位をさらに含む、請求項６７～８８のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項９０】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、少なくとも４つのＮＬＳを含む、請求項８９に記載の細胞。
【請求項９１】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、１つのＮ末端及び３つのＣ末端ＮＬＳを含む、請求項９０に記載の細胞。
【請求項９２】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、少なくとも５つのＮＬＳを含む、請求項９０に記載の細胞。
【請求項９３】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、５つのＮ末端ＮＬＳを含む、請求項９２に記載の細胞。
【請求項９４】
前記ＮＬＳが、配列番号４０～５６のいずれか１つを含む、請求項８９～９３のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項９５】
前記ＮＬＳが、配列番号４０、５１、及び５６を含む、請求項９４に記載の細胞。
【請求項９６】
前記ｇＮＡが、
（１）ターゲッターステム配列及びスペーサー配列を含むターゲッター核酸；及び
（２）前記ターゲッターステム配列に相補的なモジュレーターステム配列、及び、任意に、５’配列を含むモジュレーター核酸
を含む、請求項６７～９５のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項９７】
前記ｇＮＡが、操作された非天然ガイド核酸である、請求項６７～９６のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項９８】
前記ｇＮＡが、単一のポリヌクレオチドを含む、請求項６７～９７のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項９９】
前記ｇＮＡが、デュアルガイド核酸を含み、ここで、前記ターゲッター核酸及び前記モジュレーター核酸が、別個のポリヌクレオチドである、請求項６７～９７のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項１００】
前記デュアルｇＮＡが、天然システム中で、ｔｒａｃｒＲＮＡの非存在下で単一のｃｒＲＮＡによって活性化される核酸誘導型ヌクレアーゼに結合し、それを活性化することが可能である、請求項９９に記載の細胞。
【請求項１０１】

前記ｇＮＡ及び前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体を形成する、請求項６７～１００のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項１０２】
前記ｇＮＡが、ドナーテンプレートリクルート配列をさらに含む、請求項６７～１０１のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項１０３】
前記細胞が、ヒト細胞である、請求項６７～１０２のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項１０４】
前記ヒト細胞が、免疫細胞又は幹細胞である、請求項１０３に記載の細胞。
【請求項１０５】
前記ヒト細胞が、好中球、好酸球、好塩基球、肥満細胞、単球、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、又はリンパ球を含む免疫細胞である、請求項１０３に記載の細胞。
【請求項１０６】
前記ヒト細胞が、Ｔ細胞である、請求項１０３に記載の細胞。
【請求項１０７】
前記ヒト細胞が、ヒト万能性、多能性幹細胞、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞、造血幹細胞、ＣＤ３４＋細胞である幹細胞である、請求項１０３に記載の細胞。
【請求項１０８】
前記ヒト細胞が、人工多能性幹細胞である、請求項１０３に記載の細胞。
【請求項１０９】
前記細胞が、同種異系宿主内に配置されるとき、低下された免疫原性を示す細胞である、請求項１０３～１０８のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項１１０】
前記細胞が、同種異系宿主内に配置されるとき、非免疫原性である、請求項１０９に記載の細胞。
【請求項１１１】
第１及び第２の細胞集団を含む複数の細胞集団を含む組成物であって、
（ａ）前記第１の細胞集団が、
（ｉ）ゲノムの第１の位置における第１のＣＡＲ又はその部分をコードする第１のポリヌクレオチドの挿入を含む第１のゲノム修飾；及び
（ｉｉ）ゲノムの第２の位置における第２のＣＡＲ又はその部分をコードする第２のポリヌクレオチドの挿入を含む第２のゲノム修飾
を含み；
（ｂ）第２の細胞集団が、前記第１のゲノム修飾又は前記第２のゲノム修飾を含むが、両方を含むわけではない、組成物。
【請求項１１２】
前記第１及び前記第２の細胞集団と異なる第３の細胞集団をさらに含み、前記第３の細胞集団が、前記第１のゲノム修飾又は前記第２のゲノム修飾を含むが、両方を含むわけではない、請求項１１１に記載の組成物。
【請求項１１３】
前記第１、第２、及び第３の細胞集団と異なる第４の細胞集団をさらに含む、請求項１１２に記載の組成物。
【請求項１１４】
薬学的に許容される賦形剤及び請求項２０～１１３のいずれか一項に記載の組成物を含む組成物。
【請求項１１５】
組成物であって、
（ａ）第１のＶ型核酸誘導型ヌクレアーゼ；
（ｂ）第１のガイド核酸（ｇＮＡ）；及び

（ｃ）第１のＣＡＲ又はその部分を含む第１のポリペプチドをコードする第１のポリヌクレオチドを含む第１のドナーテンプレート
を含む組成物。
【請求項１１６】
（ｄ）第２のＶ型核酸誘導型ヌクレアーゼ；
（ｅ）第２のｇＮＡ；及び
（ｆ）ＣＡＲ又はその部分を含む第２のポリペプチドをコードする第２のポリヌクレオチドを含む第２のドナーテンプレート
をさらに含む、請求項１１５に記載の組成物。
【請求項１１７】
（ｇ）第３のＶ型核酸誘導型ヌクレアーゼ；
（ｈ）第３のｇＮＡ；及び
（ｉ）前記第１及び又は第２のポリヌクレオチドと異なる第３のポリヌクレオチドを含む第３のドナーテンプレート
をさらに含む、請求項１１６に記載の組成物。
【請求項１１８】
前記核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ７を含む、請求項１１５～１１７のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１１９】
前記ｇＮＡが、デュアルｇＮＡを含む、請求項１１５～１１８のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１２０】
前記第１及び第２のポリペプチドが、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するＣＡＲ又はその部分を含む、請求項１１５～１１９のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１２１】
前記第１及び第２のポリペプチドが、配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一である、請求項１２０に記載の細胞。
【請求項１２２】
前記第１及び第２のポリペプチドが、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するＣＡＲ又はその部分を含む、請求項１１５～１１９のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項１２３】
前記第１及び第２のポリペプチドが、配列番号８６～１０４、１１６～１２４、又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一である、請求項１２２に記載の細胞。
【請求項１２４】
前記第１のＣＡＲ又はその部分が、前記第２のＣＡＲ又はその部分と異なる結合パートナーに結合する、請求項１１５～１２３のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項１２５】
薬学的に許容される賦形剤及び請求項２０～１２４のいずれか一項に記載の細胞を含む組成物。
【請求項１２６】
標的細胞のゲノムにおける複数の部位を編集するための組成物であって、各整数ｘについて、前記組成物が、

（ａ）ＣＡＲ又はその部分（ＣＡＲ）$_x$を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むドナーテンプレート（Ｄ）$_x$；
（ｂ）Ｖ型核酸誘導型ヌクレアーゼ（Ｎ）$_x$；
（ｃ）ガイド核酸（ｇＮＡ）$_x$
を含み；
ここで、（ＣＡＲ）$_x$が、各整数について異なる、組成物。
【請求項１２７】
（Ｎ）$_x$が、ＭＡＤ７を含む、請求項１２６に記載の組成物。
【請求項１２８】
（ｇＮＡ）$_x$が、デュアルｇＮＡを含む、請求項１２６又は１２７に記載の組成物。
【請求項１２９】
（Ｄ）$_x$が、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、請求項１２６～１２８のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１３０】
（Ｄ）$_x$が、配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一であるポリペプチドを含むＣＡＲ又はその部分をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項１２９に記載の組成物。
【請求項１３１】
（Ｄ）$_x$が、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、請求項１２６～１２８のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１３２】
（Ｄ）$_x$が、配列番号８６～１０４、１１６～１２４、又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一であるポリペプチドを含むＣＡＲ又はその部分をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項１３２に記載の組成物。
【請求項１３３】
異なる整数ｘの数が、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、又は９且つ１０、９、８、６、５、４、又は３以下である、請求項１２６～１３２のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１３４】
異なる整数ｘの数が２～１０である、請求項１３３に記載の組成物。
【請求項１３５】
異なる整数ｘの数が２～５である、請求項１３４に記載の組成物。
【請求項１３６】
請求項１１５～１２５のいずれか一項に記載の第１の組成物を、標的細胞内に導入することを含む、標的細胞のゲノムを編集するための方法。
【請求項１３７】
前記組成物を前記細胞内に導入する前に、前記核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体を安定させる添加剤を、前記第１の組成物に添加することをさらに含む、請求項１３６に記載の方法。
【請求項１３８】
導入が、エレクトロポレーションを含む、請求項１３６又は１３７に記載の方法。
【請求項１３９】
前記組成物を前記細胞内に導入する前又は後に、非相同末端結合（ＮＨＥＪ）を低減す

る添加剤を細胞増殖培地に添加することをさらに含む、請求項１３６～１３８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４０】
前記組成物を前記細胞内に導入した後、前記細胞を増殖させることをさらに含む、請求項１３６～１３９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４１】
前記組成物を前記細胞内に導入し、及び／又は増殖させた後、前記細胞を分化させることをさらに含む、請求項１３６～１３９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４２】
請求項１１５～１２５のいずれか一項に記載の組成物を含む第２の組成物を導入することをさらに含み、前記第２の組成物が、前記細胞内の前記第１の組成物及び／又は前記細胞の子孫と異なる、請求項１３６～１４１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４３】
請求項１１５～１２５のいずれか一項に記載の組成物を含む第３の組成物を導入することをさらに含み、前記第３の組成物が、前記細胞内の前記第１及び／若しくは第２の組成物及び／又は前記細胞の子孫と異なる、請求項１４２に記載の方法。
【請求項１４４】
請求項９又は請求項２０～１１０のいずれか一項に記載の１つ又は複数の細胞の１つ以上の子孫。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
連邦政府による資金提供を受けた研究開発の記載
なし
【０００２】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２２年５月１６日に出願された米国仮特許出願第６３／３４２，４７２号の利益及び優先権を主張し、この米国仮特許出願の開示内容は、あらゆる目的のために全体が参照により本明細書に援用される。
【背景技術】
【０００３】
免疫系は、例えば、ヒト、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）タンパク質において、細胞表面における特定の抗原パターンを認識する。これらのタンパク質パターンは、免疫系が「宿主」細胞を「外来」細胞と区別し、すなわち、「自己」を「非自己」と区別するのを助ける。キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）Ｔ細胞は、１つ以上の治療法に使用するための人工Ｔ細胞受容体を産生するように遺伝子組換えされたＴ細胞である。受容体は、単一の受容体中で抗原結合及びＴ細胞活性化機能の両方を兼ね備えているため、「キメラ」である。「宿主」細胞を「外来」と認識すると、免疫応答、すなわち、「移植片対宿主病」（ＧｖＨ）を引き起こし、治療法がレシピエントに対する悪影響及び／又は有害な影響を示し得るため、治療目的のために操作されたＣＡＲを含むＴ細胞も、「自己」を「非自己」と区別する必要がある。したがって、多くの疾患標的を考えると、宿主抗原への結合をほとんど伴わないか全く伴わずに、目的の標的抗原への好適な結合を示すＣＡＲを開発することが引き続き必要とされている。
【０００４】
参照による援用
本明細書において言及される全ての刊行物、特許、及び特許出願は、各個々の刊行物、特許、又は特許出願が、具体的且つ個々に参照により援用されるように示される場合と同程度に参照により本明細書に援用される。
【０００５】
本発明の新規な特徴は、特に、添付の特許請求の範囲において記載される。本発明の特

徴及び利点のさらなる理解は、本発明の原理が用いられる、例示的な実施形態を記載する以下の詳細な説明、及び添付の図面を参照することによって得られるであろう。

【図面の簡単な説明】

【０００６】

【図１Ａ】例示的なシングルガイドＶ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲシステムの構造を示す概略図を示す。

【図１Ｂ】例示的なデュアルガイドＶ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲシステムの構造を示す概略図である。

【図２Ａ－Ｃ】Ｖ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムへの保護基（例えば、保護ヌクレオチド配列又は化学修飾）（図２Ａ）、ドナーテンプレートリクルート配列（図２Ｂ）、及び編集エンハンサー（図２Ｃ）の組み込みを示す一連の概略図を示す。これらの追加の要素は、デュアルガイドＶ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲシステムに関して示されるが、それらがまた、シングルガイドＶ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲシステム、シングルガイドＩＩ型ＣＲＩＳＰＲシステム、又はデュアルガイドＩＩ型ＣＲＩＳＰＲシステムを含む他のＣＲＩＳＰＲシステムにおいて存在し得ることが理解される。

【図３】出発標的細胞を、ＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドをコードする複数のポリヌクレオチドを含む組成物で操作した後に得られる集団を示す。

【図４】ポリペプチドリンカーを介して連結されたデュアルＣＡＲの概略図を示す。

【図５】ＣＡＲ又はその部分を含む表面発現されたポリペプチド及びＣＡＲ又はその部分を含む分泌されたポリペプチドの概略図を示す。

【図６】デュアルガイド核酸を含むＶ－Ａ型核酸ガイドヌクレアーゼの概略図を示す。

【図７】ゲノム編集システムの１つ以上の構成要素の送達を示す：（Ａ）核への構成要素の移動を示し；（Ｂ）構成要素の少なくとも一部が一緒に核に結合される構成要素の移動を示す。

【図８Ａ－Ｂ】連続的に、同時に、又は両方で、１つ以上のゲノム修飾を含むようにゲノムを操作するための例示的な方法を示す：（図８Ａ）成長及び／又は分化工程の介在なし；（図８Ｂ）成長及び／又は分化工程の任意の介在あり。

【図９】フローサイトメトリーによって測定される際の、処理される細胞集団（Ａ）ＴＣＲ、ＨＬＡ－Ｉ、及びＨＬＡ－ＩＩのトリプルノックアウト、又は（Ｂ）処理後のトリプルＫＯ　ＴＣＲ、ＨＬＡ－Ｉ、ＨＬＡ－ＩＩ、及びＣＡＲの挿入のパーセントを示す；ＦＬ＝全長、ｌｄｓＰＬＡ０７４＝ＣＡＲを挿入するのに使用される線状ＤＮＡ。

【発明を実施するための形態】

【０００７】

概要

Ｉ．操作されたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を含む細胞

Ａ．ＣＡＲ

Ｂ．ポリペプチド及び／又はＣＡＲ若しくはその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチド

Ｃ．ポリペプチド及び／又はＣＡＲ若しくはその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む細胞

Ｄ．ＣＡＲを含む細胞集団

Ｅ．ＣＡＲを含むように細胞を操作するための組成物及び／又はキット

Ｆ．ＣＡＲを含むように細胞を操作するための方法

ＩＩ．操作された非天然デュアルガイドＣＲＩＳＰＲ－ｃａｓシステム

Ａ．Ｃａｓタンパク質

Ｂ．ガイド核酸

Ｃ．ｇＮＡ修飾

ＩＩＩ．ゲノムＤＮＡを標的化、編集、及び／又は修飾するための組成物及び方法

Ａ．リボヌクレオチドタンパク質（ＲＮＰ）送達及び「ｃａｓ　ＲＮＡ」送達

Ｂ．ＣＲＩＳＰＲ発現システム

Ｃ．ドナーテンプレート
Ｄ．効率及び特異性
Ｅ．マルチプレックス法
Ｆ．ゲノムセーフハーバー
Ｖ．治療的使用
Ａ．遺伝子治療
ＶＩ．キット
ＶＩＩ．実施形態
ＶＩＩＩ．実施例
ＩＸ．均等物

【０００８】

Ｉ．操作されたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を含む細胞

ＣＡＲ若しくはその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチド及び／又はＣＡＲ若しくはその部分を含むポリペプチドを含む、組成物、方法、及び／又はキットが、本明細書において提供される。さらに、ＣＡＲ若しくはその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチド及び／又はＣＡＲ若しくはその部分を含むポリペプチドを含む細胞、及び／又はこのような細胞、例えば、ＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドを含む細胞の子孫を含む、組成物、方法、及び／又はキットが、本明細書において提供される。さらに、ＣＡＲ若しくはその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチド及び／又はＣＡＲ若しくはその部分を含むポリペプチドを含む細胞、細胞集団、及び／又は複数の細胞集団を生成及び／又は使用するための組成物、方法、及び／又はキットが、本明細書において提供される。任意の好適なＣＡＲが使用され得る。特定の実施形態において、ＣＡＲは、以下のＣＡＲのセクションに記載されるようなＣＡＲを含む。任意の好適な細胞が使用され得る。特定の実施形態において、細胞は、ヒト細胞、例えば、ヒト免疫細胞、例えば、好中球、好酸球、好塩基球、肥満細胞、単球、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、リンパ球、又はそれらの組合せ、好ましくは、Ｔ細胞、及び／又はヒト幹細胞、例えば、ヒト万能性（ｐｌｕｒｉｐｏｔｅｎｔ）、多能性（ｍｕｌｔｉｐｏｔｅｎｔ）幹細胞、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞、造血幹細胞、ＣＤ３４＋細胞、又はそれらの組合せ、好ましくは、造血幹細胞、より好ましくは、ＣＤ３４＋幹細胞、さらにより好ましくは、人工多能性幹細胞（ｉＰＳＣ）を含む。

【０００９】

特定の実施形態において、細胞は、同種異系細胞を含む。任意の好適な同種異系細胞が使用され得る。本明細書で使用される場合、「同種異系」という用語は、遺伝的に異なるため宿主と免疫学的に適合しない、同じ種に由来する細胞を含む。特定の実施形態において、同種異系細胞は、宿主、例えば、レシピエント内の細胞の免疫原性を低下させる１つ以上の遺伝子組換えを含む。特定の実施形態において、細胞は、１つ以上のゲノム修飾を含むように操作され得る。特定の実施形態において、細胞は、細胞の免疫原性を低下させる１つ以上のゲノム修飾を含むように操作され得、例えば、改変細胞は、インビトロ及び／又はインビボで免疫応答をほとんど生じないか全く生じない。特定の実施形態において、宿主（レシピエント、患者、又は好適な代替）に対する同種異系細胞は、宿主内の１つ以上の同種異系細胞の免疫原性を低下させる１つ以上のゲノム修飾を含むように操作され得る。特定の実施形態において、細胞は、非操作同等物と比較して、免疫応答の９０、８０、７０、６０、５０、４０、３０、２５、２０、１５、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、又は１％以下を引き起こすように操作され得る。特定の実施形態において、細胞は、宿主における免疫応答を引き起こさないように操作され得る。免疫応答は、任意の好適な技術、例えば、フローサイトメトリー又はＥＬＩＳＡを用いて測定され得る。

【００１０】

特定の実施形態において、細胞は、細胞の免疫原性を低下させる１つ以上のゲノム修飾を含む。細胞の免疫原性を低下させる任意の好適なゲノム修飾及び／又はゲノム修飾の組合せが使用され得る。特定の実施形態において、細胞は、（１）ＨＬＡ－１タンパク質の

サブユニットをコードする１つ以上の遺伝子を部分的に若しくは完全に不活性化する１つ以上のゲノム修飾、（２）ＨＬＡ－２タンパク質のサブユニットをコードする１つ以上の遺伝子又はＨＬＡ－２タンパク質の１つ以上のサブユニットの発現を調節する転写因子を部分的に若しくは完全に不活性化する１つ以上のゲノム修飾、及び／又は（３）ＴＣＲタンパク質のサブユニットをコードする１つ以上の遺伝子を部分的に若しくは完全に不活性化する１つ以上のゲノム修飾を含む。好ましい実施形態において、細胞は、３つ全てのゲノム修飾を含む。特定の実施形態において、１つ以上のゲノム修飾は、１つ以上の遺伝子を完全に不活性化する。特定の実施形態において、１つ以上のゲノム修飾は、活性（免疫原性）タンパク質の表面発現を少なくとも部分的に又は完全になくす。特定の実施形態において、１つ以上のゲノム修飾は、活性（免疫原性）タンパク質の表面発現を完全になくす。特定の実施形態において、１つ以上のゲノム修飾を含む細胞は、限定はされないが、１つ以上の異種遺伝子、例えば、導入遺伝子の導入を含む１つ以上のさらなる修飾をさらに含み得る。１つ以上の導入遺伝子は、ゲノム内の任意の好適な位置に導入され得る。特定の実施形態において、１つ以上の導入遺伝子は、以下のゲノムセーフハーバーのセクションに記載されるように、セーフハーバー部位（ＳＨＳ）、例えば、セーフハーバー中に導入される。特定の実施形態において、１つ以上の導入遺伝子は、ゲノム修飾（１）～（３）を含む部位の１つ以上に導入され、例えば、ＣＡＲ導入遺伝子は、ＴＣＲタンパク質のサブユニットをコードする１つ以上の遺伝子、例えば、ＴＲＡＣ遺伝子中に導入され得、及び／又はＢ２Ｍ－ＨＬＡ－Ｅ及び／又はＢ２Ｍ　ＨＬＡ－Ｇ融合タンパク質は、ＨＬＡ－１タンパク質のサブユニットをコードする１つ以上の遺伝子、例えば、Ｂ２Ｍ遺伝子中に導入され得る。

【００１１】

細胞は、任意の好適な組成物及び方法を用いて操作され得る。特定の実施形態において、細胞は、部位特異的ヌクレアーゼ及び／又は部位特異的ヌクレアーゼをコードする１つ以上のポリヌクレオチドを含む組成物を細胞に送達することによって操作され得る。部位特異的ヌクレアーゼは、任意の好適なヌクレアーゼ、例えば、ホーミングエンドヌクレアーゼ、ＴＡＬＥＮ、メガヌクレアーゼ、アルゴノート、及び／又はＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓヌクレアーゼ、すなわち、核酸誘導型ヌクレアーゼであり得る。好ましい実施形態において、部位特異的ヌクレアーゼは、核酸誘導型ヌクレアーゼを含む。部位特異的ヌクレアーゼは、骨格を加水分解し、すなわち、ポリヌクレオチド、例えば、ゲノム内で、ヌクレアーゼの認識部位、すなわち、標的部位又はその近くに、１つ以上の切断又は鎖切断を生成することができる。ポリヌクレオチドの少なくとも１つの鎖における１つ以上の鎖切断は、任意の好適な自然の細胞修復機構、例えば、非相同的組換え（ＮＨＥＪ）及び／又は相同組換え修復（ＨＤＲ）を介して修復され得る。特定の実施形態において、ＮＨＥＪによるポリヌクレオチドの少なくとも１つの鎖における１つ以上の鎖切断の修復は、１つ以上のゲノム修飾、例えば、挿入及び／又は欠失（ＩＮＤＥＬＳ）をもたらす。それに加えて又はその代わりに、異種ＤＮＡ、例えば、ドナーテンプレートの１つ以上の部分が、細胞内に導入され得、異種ＤＮＡの少なくとも一部が、ＨＤＲによってＤＮＡにおける１つ以上の鎖切断において又はその近くで細胞によって挿入され得る。

【００１２】

特定の実施形態において、部位特異的ヌクレアーゼは、核酸誘導型ヌクレアーゼ、例えば、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓヌクレアーゼを含む。任意の好適な核酸誘導型ヌクレアーゼは、標的ポリヌクレオチドにおける１つ以上の鎖切断を生成するのに使用され得る。特定の実施形態において、核酸誘導型ヌクレアーゼは、１つ以上の操作された、非天然構成要素を含む。特定の実施形態において、核酸誘導型ヌクレアーゼは、クラス１又はクラス２　Ｃａｓヌクレアーゼ、例えば、Ｖ－Ａ、Ｖ－Ｂ、Ｖ－Ｃ、Ｖ－Ｄ、又はＶ－Ｅ型を含む。特定の実施形態において、核酸誘導型ヌクレアーゼは、ＭＡＤ、ＡＲＴ、又はＡＢＷヌクレアーゼ、例えば、ＭＡＤ１、ＭＡＤ２、ＭＡＤ３、ＭＡＤ４、ＭＡＤ５、ＭＡＤ６、ＭＡＤ７、ＭＡＤ８、ＭＡＤ９、ＭＡＤ１０、ＭＡＤ１１、ＭＡＤ１２、ＭＡＤ１３、ＭＡＤ１４、ＭＡＤ１５、ＭＡＤ１６、ＭＡＤ１７、ＭＡＤ１８、ＭＡＤ１９、ＭＡＤ２０、

ＡＲＴ１、ＡＲＴ２、ＡＲＴ３、ＡＲＴ４、ＡＲＴ５、ＡＲＴ６、ＡＲＴ７、ＡＲＴ８、ＡＲＴ９、ＡＲＴ１０、ＡＲＴ１１、ＡＲＴ１１＊、ＡＲＴ１２、ＡＲＴ１３、ＡＲＴ１４、ＡＲＴ１５、ＡＲＴ１６、ＡＲＴ１７、ＡＲＴ１８、ＡＲＴ１９、ＡＲＴ２０、ＡＲＴ２１、ＡＲＴ２２、ＡＲＴ２３、ＡＲＴ２４、ＡＲＴ２５、ＡＲＴ２６、ＡＲＴ２７、ＡＲＴ２８、ＡＲＴ２９、ＡＲＴ３０、ＡＲＴ３１、ＡＲＴ３２、ＡＲＴ３３、ＡＲＴ３４、及び／又はＡＲＴ３５ヌクレアーゼ、ＭＡＤ２、ＭＡＤ７、ＡＲＴ１１、ＡＲＴ１１＊、又はＡＲＴ２ヌクレアーゼのアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。より好ましい実施形態において、核酸誘導型ヌクレアーゼは、ＭＡＤ２、ＭＡＤ７、ＡＲＴ２、ＡＲＴ１１、又はＡＲＴ１１＊のアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９、又は１００％同一であるアミノ酸配列、さらにより好ましくは、配列番号３７のアミノ酸配列と少なくとも８８０、８５、９０、９５、９９、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、核酸誘導型ヌクレアーゼは、１つ以上の核局在化シグナル（ＮＬＳ）、例えば、１、４、又は５つの核局在化シグナル、例えば、カルボキシ末端における１～５つのＮＬＳ、アミノ末端における１～５つのＮＬＳ、又はそれらの組合せ、好ましくは、１つのＮ末端ＮＬＳ及び３つのＣ末端ＮＬＳ、より好ましくは、５つのＮ末端ＮＬＳを含む。任意の好適なＮＬＳ配列、例えば、配列番号４０～５６、好ましくは、配列番号４０、５１、及び５６のいずれか１つが使用され得る。ＮＬＳ配列の任意の好適な組合せが使用され得る。さらなるヌクレアーゼ及びその修飾が、以下のＣａｓタンパク質のセクションにおいて見られる。

【００１３】

特定の実施形態において、核酸誘導型ヌクレアーゼは、ガイド核酸をさらに含む。特定の実施形態において、ガイド核酸は、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸、例えば、デュアルガイド核酸を含む。特定の実施形態において、ターゲッター核酸は、ターゲッターステム配列及びスペーサー配列を含むターゲッター核酸を含む。特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、ターゲッターステム配列に相補的なモジュレーターステム配列、及び、任意に、５’配列を含む。特定の実施形態において、ガイド核酸は、単一のポリヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、ガイド核酸は、操作された非天然ガイド核酸を含む。特定の実施形態において、ガイド核酸は、デュアルガイド核酸（以下のガイド核酸のセクションに記載されるような）を含み、ここで、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、別個のポリヌクレオチドである。ガイド核酸がデュアルガイド核酸である特定の実施形態において、ターゲッター核酸のステム及びモジュレーター核酸のステムは加水分解する。特定の実施形態において、デュアルガイド核酸は、核酸誘導型ヌクレアーゼに結合し、それを活性化することが可能であり、これは、天然システム中で、ｔｒａｃｒＲＮＡの非存在下で単一のｃＲＮＡによって活性化される。

【００１４】

特定の実施形態において、ガイド核酸は、以下のｇＮＡ修飾のセクションに記載されるように５’末端、３’末端、及び／若しくは両方において又はその近くに、１つ以上のヌクレオチド及び／又はヌクレオチド間結合に対する１つ以上の化学修飾、例えば、２’－Ｏ－アルキル、２’－Ｏ－メチル、ホスホロチオエート、ホスホノアセテート、チオホスホノアセテート、２’－Ｏ－メチル－３’－ホスホロチオエート、２’－Ｏ－メチル－３’－ホスホノアセテート、２’－Ｏ－メチル－３’－チオホスホノアセテート、２’－デオキシ－３’－ホスホノアセテート、２’－デオキシ－３’－チオホスホノアセテート、又はそれらの組合せを含む。

【００１５】

特定の実施形態において、１つ以上のガイド核酸は、１つ以上のヌクレアーゼと複合体形成され得、例えば、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体であり得る。特定の実施形態において、１つ以上のガイド核酸、１つ以上の核酸誘導型ヌクレアーゼ、及び／又は１つ以上の核酸誘導型ヌクレアーゼは、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体を安定させる１つ以上の添加剤をさらに含み得る。

【００１６】
ＣＡＲを含むこのような細胞及び／又は細胞の集団は、様々な目的のために使用され得、１つのこのような目的は、ＣＡＲ　Ｔ細胞であり得る。
【００１７】
Ａ．ＣＡＲ
特定の実施形態において、ＣＡＲ又はその部分（図３（３０２）及び（３０３））を含む、組成物、方法、及び／又はキットが、本明細書において提供される。特定の実施形態において、デュアルＣＡＲ、例えば、ＣＡＲ融合タンパク質又は２つの別個のＣＡＲ（図３（３０４）及び図４）を含む組成物、方法、及び／又はキットが、本明細書において提供される。本明細書で使用される場合、「デュアルＣＡＲ」という用語は、別個であるか、又は１つ以上のポリペプチドリンカーを介して結合された第１のＣＡＲ又はその部分及び第２のＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドを含む。特定の実施形態において、第２のＣＡＲ又はその部分は、第１のＣＡＲ又はその部分と同じ抗原を標的とする。特定の実施形態において、第２のＣＡＲ又はその部分は、第１のＣＡＲ又はその部分と異なる抗原を標的とする。さらに、別個であるか又は１つ以上のポリペプチドリンカーを介して結合された、いくつものＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドが、本明細書に開示される。特定の実施形態において、細胞は、別個であるか又は１つ以上のポリペプチドリンカーを介して結合された、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、若しくは１４及び／又は１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２つ以下のＣＡＲ又はその部分、例えば、１～１５、好ましくは、１～１０、より好ましくは、２～１０、さらにより好ましくは、２～７、さらにより好ましくは、２～５つのＣＡＲ又はその部分を含み得る。ポリペプチドリンカーは、天然又は非天然アミノ酸を含む任意の好適なリンカーを含み得る。特定の実施形態において、ＣＡＲ又はその部分は、細胞表面上で発現される。それに加えて又はその代わりに、ＣＡＲ又はその部分は分泌される。
【００１８】
特定の実施形態において、ＣＡＲ又はその部分は、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、ＣＤ３ζ、その部分、又はそれらの組合せ、好ましくは、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭｘＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、又はＣＤ３ζを含む結合パートナーに結合するポリペプチドを含む。特定の実施形態において、ＣＡＲ又はその部分は、表１の配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５、又は１００％同一であり、好ましくは、表１の配列番号８６～１０４、１１６～１２４、又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５、又は１００％同一である、さらにより好ましくは、少なくとも９５％同一である、さらにより好ましくは、少なくとも９９％同一であるポリペプチドである。
【００１９】
特定の実施形態において、ＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、組成物、方法、及び／又はキットが、本明細書において提供される。ポリヌクレオチドは、ゲノム内の任意の好適な位置、例えば、セーフハーバー部位（以下のゲノムセーフハーバーのセクションに説明されるような）及び／又はＴＲＡＣ遺伝子などの好適な遺伝子中に挿入され得る。特定の実施形態において、ポリヌクレオチドは、第１のＣＡＲ又はその部分を含む第１の部分及び第２のＣＡＲ又はその部分を含む第２の部分を含み得る。ポリヌクレオチドの第１の部分及びポリヌクレオチドの第２の部分は、別々に発現され得、例えば、第１のＣＡＲ又はその部分をコードする第１のｍＲＮＡ転写産物が生成され、第２のＣＡＲ又はその部分をコードする第２のｍＲＮＡ転写産物が生成され得る。或いは、又はさらに、第１の部分及び第２の部分は、例えば、内部リボソーム侵入部位を含む単一のｍＲＮＡ転写産物として発現され得る。発現のための任意の好適なゲ

ノム構築物が、任意の好適な数のＣＡＲ及び／又はデュアルＣＡＲと組み合わせて使用され得る。

【００２０】

ＣＡＲ又はデュアルＣＡＲ又はその部分は、任意の好適な形態、例えば、抗体、ナノボディ（ＶＨＨ）、Ｆａｂ、ｓｃＦｖ、ダイアボディ、トリアボディ、ミニボディ、単一ドメイン抗体、第一世代ＣＡＲ、第二世代ＣＡＲ、第三世代ＣＡＲ、及び／又は第四世代ＣＡＲを含み得る。任意の好適な抗原結合ドメインは、適用のために必要に応じてさらなるＣＡＲドメインの任意の好適な組合せと組み合わされ得る。

【００２１】

特定の実施形態において、ＣＡＲ又はその部分は、抗体、抗体の抗原結合断片、又はこのような抗体に由来する融合タンパク質、例えば、一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）であり得る。本明細書におけるこれらの実施形態によれば、ｓｃＦｖは、従来の２鎖抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメインが、単一のポリペプチド鎖を形成するように結合された一本鎖Ｆｖ抗体を含み得る。いくつかの実施形態において、本明細書において考えられる一本鎖抗体は、ヒト又は動物（例えば、マウス、ウサギ、ブタ、イヌ、ウシ、ウマ、ヤギ、ラクダ、又は他の動物）を含む任意の種に由来し得る。いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、シグナル伝達ドメイン及び共刺激ドメインを含み得る。

【００２２】

他の実施形態において、ＣＡＲ又はその部分は、抗原結合ドメインを膜貫通ドメインに連結するスペーサードメインをさらに含む。いくつかの実施形態において、適切な長さのスペーサードメインは、標的抗原への最適な結合を可能にするように抗原結合ドメインの可動性を改善し、柔軟性を改善することができる。特定の実施形態において、スペーサードメインは、ＩｇＧｌ、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、又はＩｇＧ４のヒンジ領域の少なくとも一部又はセグメントを含む。いくつかの実施形態において、スペーサードメインは、ＩｇＧｌ、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、又はＩｇＧ４のＣＨ２領域及び／又はＣＨ３領域に由来し得る。他の実施形態において、スペーサードメインは、可変重鎖及びコアの間に見られる上側ヒンジアミノ酸、及びポリプロリン領域を含むコアヒンジアミノ酸を含む。他の実施形態において、スペーサー領域は、ヒトＩｇＧ４ヒンジスペーサーのヒンジ領域の少なくとも一部を含む。いくつかの実施形態において、スペーサー領域は、ヒトＩｇＧ４ヒンジ－ＣＨ３スペーサーを含む。

【００２３】

いくつかの実施形態において、ＣＡＲ又はその部分は、膜貫通ドメインをさらに含む。膜貫通ドメインは、細胞膜におけるＣＡＲの固定を提供し得る。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、膜結合又は膜貫通タンパクを含む。他の実施形態において、膜貫通ドメインは、Ｔ細胞受容体のα、β、又はζ鎖の膜貫通領域、例えば、ＣＤ２８、ＣＤ３、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ８ａ　ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７又はＣＤ１５４を含む。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、ＣＤ２８膜貫通ドメイン（ＣＤ２８ｔｍ）を含む。

【００２４】

他の実施形態において、ＣＡＲ又はその部分は、膜貫通ドメインに連結される細胞内シグナル伝達ドメインをさらに含む。これらの実施形態によれば、細胞内シグナル伝達ドメインは、抗原結合ドメインが標的抗原に結合するとき、細胞の機能を活性化し得る。いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＡＲを発現する細胞、例えば、ＣＡＲを発現するＴ細胞の機能を活性化し得る。他の実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次細胞質シグナル伝達タンパク質の機能的ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次細胞質シグナル伝達タンパク質の機能的ドメイン、及び１つ以上の二次細胞質シグナル伝達タンパク質の少なくとも１つの機能的ドメインを含む。特定の実施形態において、刺激

的に作用する一次細胞質シグナル伝達タンパク質は、細胞内受容体チロシンベースの活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）として知られているシグナル伝達モチーフを含有し得る。これらの実施形態によれば、本明細書において使用するための一次細胞質シグナル伝達ドメインを含有するＩＴＡＭの例としては、限定はされないが、ＣＤ３ζ、ＦｃＲγ、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、又はＣＤ６６ｄに由来するものが挙げられる。いくつかの実施形態において、本明細書における細胞内シグナル伝達ドメイン及び／又は共刺激ドメインは、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、０Ｘ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－ｌ）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、又はＢ７Ｈ３、及び／又はＣＤ８３と特異的に結合するリガンドの全て又は生物学的に活性な断片を含み得る。いくつかの実施形態において、本明細書における細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３－ζ又はその変異体のシグナル伝達ドメインの全て又は生物学的に関連するセグメント及び４－１ＢＢ若しくはその変異体のシグナル伝達ドメインの全て又は一部を含み得る。

【００２５】

【表１】

表1: CAR

配列番号	抗原	配列
86	BCMA	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGNIFSDNLMGWFRQAPGKE REFVAAINWNSRSTYYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKP EDTAVYYCAKDLTMVRGVPDYWGQGTLVTVSS
87	BCMA	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLGDYVMGWFRQAPGKE REWVSVISSSGDFTSYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKP EDTAVYYCASHYYDSSGTNWGQGTLVTVSS
88	BCMA	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSAIMGWFRQAPGKE REFVSAITWNGTRTYYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKP EDTAVYYCAKDLLEVGATPGNWGQGTLVTVSS
89	BCMA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFETYAMSWVRQAPGKG LEWVSGISPSGGITTYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARREWWYDDWYLDYWGQGTLVTVSS
90	BCMA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSTFAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARRGWGSWSWYFDLWGQGTLVTVSS
91	BCMA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYAMAWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGGTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARREWWYDDWYLDYWGQGTLVTVSS
92	BCMA	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIERRLNWYQQKPGKAP KLLIYAASDLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQNNNWPTTFGQGTKVEIK
93	BCMA	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIGIYLNWYQQKPGKAP KLLIYDASSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPFTFGGGTKVEIK
94	BCMA	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIGDYLNWYQQKPGKAP KLLIYAVTSRASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTLTFGQGTKVEIK

【００２６】

【表２】

95	B7H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIAFSIDIMGWFRQAPGKE REFVAAVNWNGDSTYYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKP EDTAVYYCATIDGSWREWGQGTLVTVSS
96	B7H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGLRFDDYWMGWFRQAPGKE REFVSAINWSGVSTYYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKP EDTAVYYCAARQYGEYWQAAGWGQGTLVTVSS
97	B7H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGLTLDYYAMGWFRQAPGKE REFVAGINNGRAITYYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKP EDTAVYYCATIDGSWREWGQGTLVTVSS
98	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFPMSWVRQAPGKG LEWVSAITGTGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCATRTGTTGTAFDIWGQGTLVTVSS
99	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSNYAMSWVRQAPGKG LEWVSAVSRSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDLGYYAFDFWGQGTLVTVSS
100	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKG LEWVSSISGSGGRTDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARIRSRGSSGFDPWGQGTLVTVSS
101	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNIGRYLNWYQQKPGKAP KLLIYDASGLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPPWTFGGGTKVEIK
102	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIYRYLNWYQQKPGKAP KLLIYHASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYTFPRSFGGGTKVEIK
103	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVYSYLNWYQQKPGKAP KLLIYETSNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSFTSPLTFGGGTKVEIK
104	CD19	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFENYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGHTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAHSNKRTGHAFDIWGQGTLVTVSS
105	CD19	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRHAMSWVRQAPGKG LEWVSAITGSGASTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGGRREFHYGLDYWGQGTLVTVSS

【００２７】

【表３】

106	CD19	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGNYAMAWVRQAPGKG LEWVSAISGNGGSTFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARAGRILFDYWGQGTLVTVSS
107	CD19	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISRSGGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARVRMKGYTYFDPWGQGTLVTVSS
108	CD19	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMSWVRQAPGKG LEWVSSISGSGGSTYYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARSKRLIHGLDVWGQGTLVTVSS
109	CD19	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYTMSWVRQAPGKG LEWVSTISGSGYSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAHSNKRTGHAFDIWGQGTLVTVSS
110	CD19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSTFLNWYQQKPGKAP KLLIYGASILQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYTPPLTFGGGTKVEIK
111	CD19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSRFLNWYQQKPGKAP KLLIYAASVLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQTYSPPLTFGGGTKVEIK
112	CD19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRRYLNWYQQKPGKAP KLLIYHTSRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC AQGWGRPVTFGQGTKVEIK
113	CD19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTISSSLNWYQQKPGKAP KLLIYGASSLRSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQTYSNPITFGGGTKVEIK
114	CD19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSISTYLNWYQQKPGKAP KLLIYGASALQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYTAPLTFGGGTKVEIK
115	CD19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTISKYLNWYQQKPGKAP KLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSPPITFGGGTKVEIK
116	CD22	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIPSIRAMGWFRQAPGKER EWVSSINSDGTSAFYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKPE DTAVYYCARAYGRGTYDWGQGTLVTVSS

【００２８】

【表４】

117	CD22	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGEYAMGWFRQAPGKE REFVASISRSGTLRAYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKP EDTAVYYCAKESKDYFYMDVWGQGTLVTVSS
118	CD22	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYGMGWFRQAPGKEREF VASVTSGGYTNYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKPEDTA VYYCARGGGTSVRAFDIWGQGTLVTVSS
119	CD22	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFAAYDMGWVRQAPGKG LEWVSSISGYGSTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARHSGYGSSYGVLFAYWGQGTLVTVSS
120	CD22	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFAAYDMGWVRQAPGKG LEWVATISGGGINTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARHSGYGSSYGVLFAYWGQGTLVTVSS
121	CD22	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFPVYNMAWVRQAPGKG LEWVSEIDALGTDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARHSGYGSSYGVLFAYWGQGTLVTVSS
122	CD22	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNWYQQKPGKAP KLLIYGKNIRPSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC FQGSQFPYTFGQGTKVEIK
123	CD22	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSSGVAWYQQKPGKAP KLLIYHASQSISGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QSYDLKSLNVVFGQGTKVEIK
124	CD22	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISSYLAWYQQKPGKAP KLLIYGQHNRPSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYNTPRTFGQGTKVEIK
2044	B7H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSNVMGWFRQAPGKE REFVALITWSGGSTYYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKP EDTAVYYCATDAGVIAGRPGSVTLWGQGTLVTVSS
2045	B7H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAMGWFRQAPGKE REFVGFITGSGGTTVYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKP EDTAVYYCAARRLIYGRTVWGQGTLVTVSS
2046	B7H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIYSLIAMGWFRQAPGKE REFVAAISAGGSWTGYADSVKGRFTISADNSKNTAYLQMNSLKP EDTAVYYCAIDPDGEWGQGTLVTVSS

【００２９】

【表５】

2047	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYPMSWVRQAPGKG LEWVSAITGTGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCATRTGTTGTAFDIWGQGTLVTVSS
2048	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNYAMSWVRQAPGKG LEWVSSISASGGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCATALGTIIGAFDLWGQGTLVTVSS
2049	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYTMNWVRQAPGKG LEWVSGISGSGGNTYYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCTRRGVMGSFDIWGQGTLVTVSS
2050	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSPFSNYAMSWVRQAPGKG LEWVSTITSSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKNVGATRIDYWGQGTLVTVSS
2051	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFPMSWVRQAPGKG LEWVSAITGTGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCATRTGTTGTAFDIWGQGTLVTVSS
2052	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYPMNWVRQAPGKG LEWVSIITGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGAVLRGMDVWGQGTLVTVSS
2053	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGLTFSTYGMSWVRQAPGKG LEWVSAITGSGGTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARHSAVAGTGFDPWGQGTLVTVSS
2054	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYPMTWVRQAPGKG LEWVSSISASGASTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARSSYYGPGWGMDVWGQGTLVTVSS
2055	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMSWVRQAPGKG LEWVSGISGSGGRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARRGNSYGPLDYWGQGTLVTVSS
2056	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFPTYSMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARRGDSSGGAFDIWGQGTLVTVSS
2057	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAVNWVRQAPGKG LEWVSSISGSGGSVYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCGRGMGYGVDVWGQGTLVTVSS

【００３０】

【表６】

2058	B7H3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLRNYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGRTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARRSGRYGGAFDIWGQGTLVTVSS
2059	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNIGRYLNWYQQKPGKAP KLLIYDASGLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPPWTFGGGTKVEIK
2060	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSINKYLNWYQQKPGKAP KLLIYRASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQTYSTPTWTFGGGTKVEIK
2061	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTISNYVNWYQQKPGKAP KLLIYAASTLKSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQTYSTPTWTFGGGTKVEIK
2062	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTISRFLNWYQQKPGKAP KLLIYAASTLQGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYTFPWTFGGGTKVEIK
2063	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNIGRYLNWYQQKPGKAP KLLIYDASGLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPPWTFGGGTKVEIK
2064	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISRYLNWYQQKPGKAP KLLIYAASTLQRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQTYTTPLTFGGGTKVEIK
2065	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNIAGYLNWYQQKPGKAP KLLIYRASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTLWTFGGGTKVEIK
2066	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTINRYLNWYQQKPGKAP KLLIYGASRLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPPWTFGGGTKVEIK
2067	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIAGYLNWYQQKPGKAP KLLIYAASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPTWTFGGGTKVEIK
2068	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQIIGNYLNWYQQKPGKAP KLLIYAASRVQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPTWTFGGGTKVEIK

【００３１】

【表７】

2069	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIHSYLNWYQQKPGKAP KLLIYRASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYRLPLTFGGGTKVEIK
2070	B7H3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSISSYLNWYQQKPGKAP KLLIYGASTLQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPPWTFGGGTKVEIK

【００３２】

Ｂ．ポリペプチド及び／又はＣＡＲ若しくはその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチド

特定の実施形態において、ポリペプチドを含む組成物が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、ポリペプチドは、ＣＡＲ又はその部分を含む。特定の実施形態において、ポリペプチドは、配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５、又は１００％同一である、好ましくは、少なくとも９０％同一である、より好ましくは、少なくとも９５％同一である、さらにより好ましくは、少なくとも９９％同一である、さらにより好ましくは、９９．５％同一である、さらにより好ましくは、１００％同一である配列を含む。より好ましい実施形態において、ポリペプチドは、配列番号８６～１０４、１１６～１２４、又は２０４４～２０７０のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５、又は１００％同一である、好ましくは、少なくとも９０％同一である、より好ましくは、少なくとも９５％同一である、さらにより好ましくは、少なくとも９９％同一である、さらにより好ましくは、９９．５％同一である、さらにより好ましくは、１００％同一である配列を含む。

【００３３】

特定の実施形態において、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む組成物が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、ポリヌクレオチドは、ＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドをコードする。特定の実施形態において、ポリヌクレオチドは、配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５、又は１００％同一である、好ましくは、少なくとも９０％同一である、より好ましくは、少なくとも９５％同一である、さらにより好ましくは、少なくとも９９％同一である、さらにより好ましくは、９９．５％同一である、さらにより好ましくは、１００％同一である配列を含むポリペプチドをコードする。より好ましい実施形態において、ポリヌクレオチドは、配列番号８６～１０４、１１６～１２４、又は２０４４～２０７０のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５、又は１００％同一である、好ましくは、少なくとも９０％同一である、より好ましくは、少なくとも９５％同一である、さらにより好ましくは、少なくとも９９％同一である、さらにより好ましくは、９９．５％同一である、さらにより好ましくは、１００％同一である配列を含むポリペプチドをコードする。

【００３４】

特定の実施形態において、ポリヌクレオチドは、２つ以上のポリペプチドをコードする。特定の実施形態において、ポリヌクレオチドは、第１の部分及び第２の部分を含み、ここで、第１の部分は、第１のＣＡＲ又はその部分を含む第１のポリペプチドをコードし、第２の部分は、第２のＣＡＲ又はその部分を含む第２のポリペプチドをコードする。ポリヌクレオチドは、任意の好適な数のポリペプチド、例えば、１、２、３、４、５、６、７

、８、９、１０、１１、１２、１３、若しくは１４及び／又は１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２つ以下のポリペプチド、例えば、１～１５、好ましくは、１～１０、より好ましくは、２～１０、さらにより好ましくは、２～７、さらにより好ましくは、２～５つをコードし得る。特定の実施形態において、ポリペプチドは、別個である。特定の実施形態において、ポリペプチドは、連結される。任意の好適なリンカーが使用され得、例えば、リンカーは、１つ以上のアミノ酸又はポリペプチド、例えば、自己切断ポリペプチドを含む。ポリペプチドリンカーは、天然又は非天然アミノ酸を含む任意の好適なリンカーを含み得る。

【００３５】

特定の実施形態において、第１のＣＡＲ又はその部分は、第１の結合パートナー、例えば、抗原又はエピトープの第１の部位に結合し、第２のＣＡＲ又はその部分は、第２の結合パートナーの第２の部位に結合する。特定の実施形態において、第１及び第２の部位は、同じ結合パートナーにおける同じ部位である。特定の実施形態において、第１及び第２の部位は、同じ結合パートナーにおける異なる部位である。特定の実施形態において、第１の部位は、第１の結合パートナーにおける部位に結合し、第２の部位は、第２の結合パートナーにおける部位に結合する。

【００３６】

Ｃ．ポリペプチド及び／又はＣＡＲ若しくはその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む細胞

特定の実施形態において、第１のポリペプチドをコードする第１のポリヌクレオチドを含む細胞を含む組成物が、本明細書において提供される。第１のポリヌクレオチドは、ゲノムにおける任意の好適な位置、例えば、セーフハーバー部位又は遺伝子、例えば、ＴＲＡＣ遺伝子中に挿入され得る。特定の実施形態において、第１のポリペプチドをコードする第１のポリヌクレオチドは、第１のＣＡＲ又はその部分を含む。第１のＣＡＲ又はその部分は、上記のＣＡＲのセクションに記載されるように、任意の好適なＣＡＲ又はその部分を含み得る。ＣＡＲ又はその部分を含む第１のポリペプチドは、細胞の表面上で発現され、又は分泌され得る。好ましい実施形態において、ＣＡＲ又はその部分を含む第１のポリペプチドは、細胞の表面上で発現される。例示的な例が、図３に示される。具体的には、図３は、第１のＣＡＲ又はその部分（３０２）を含む第１のポリペプチドを含む第１の細胞及び第２のＣＡＲ又はその部分（３０３）を含む第２のポリペプチドを含む第２の細胞を示し、ここで、第２のＣＡＲ又はその部分は、第１のＣＡＲ又はその部分と異なる。細胞は、ＣＡＲ又はその部分を含む任意の好適な数のポリペプチドを含むことができ、例えば、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、若しくは９及び／又は１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２つ以下のＣＡＲ、例えば、１～１０個のポリペプチド又はその部分、好ましくは、１～５つのポリペプチド又はその部分、より好ましくは、１～５つのポリペプチド又はその部分、さらにより好ましくは、１～３つのポリペプチド又はその部分を含み得る。示される細胞が、第１及び／又は第２のポリペプチド又はその部分をコードするポリヌクレオチドを含むことが理解されるべきである。

【００３７】

特定の実施形態において、第１のポリヌクレオチドは、第２のＣＡＲ又はその部分、例えば、デュアルＣＡＲを含む第２のポリペプチドをさらにコードする。第１のＣＡＲ又はその部分は、上記のＣＡＲのセクションに記載されるように、任意の好適なＣＡＲ又はその部分を含み得る。第１及び／又は第２のポリペプチドは、細胞の表面上で発現され、又は分泌され得る。特定の実施形態において、第１及び第２のポリペプチドは、同じＣＡＲ又はその部分を含む。好ましい実施形態において、第２のＣＡＲ又はその部分は、第１のＣＡＲ又はその部分と異なる。

【００３８】

特定の実施形態において、第１のポリヌクレオチドを含む細胞は、第２のＣＡＲ又はその部分、例えば、デュアルＣＡＲを含む第２のポリペプチドをコードする部分の第２のポリヌクレオチドをさらに含む。第２のＣＡＲ又はその部分は、上記のＣＡＲのセクション

に記載されるように、任意の好適なＣＡＲ又はその部分を含み得る。第２のＣＡＲ又はその部分は、細胞の表面上で発現され、又は分泌され得る。特定の実施形態において、第１及び第２のポリペプチドは、同じＣＡＲ又はその部分を含む。好ましい実施形態において、第２のＣＡＲ又はその部分は、第１のＣＡＲ又はその部分と異なる。

【００３９】

第１及び第２のＣＡＲ又はその部分（３０４）を含む細胞の例示的な例が、図３に示される。

【００４０】

特定の実施形態において、ＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドは、ポリペプチドリンカーを介して第２のＣＡＲ又はその部分に連結された第１のＣＡＲ又はその部分を含むデュアルＣＡＲを含む。第１及び第２のＣＡＲ又はその部分は、上記のＣＡＲのセクションに記載されるように、任意の好適なＣＡＲ又はその部分を含み得る。デュアルＣＡＲは、細胞の表面上で発現され、又は分泌され得る。特定の実施形態において、第１及び第２のＣＡＲ又はその部分は、同じＣＡＲ又はその部分を含む。好ましい実施形態において、第２のＣＡＲ又はその部分は、第１のＣＡＲ又はその部分と異なる。ポリペプチドリンカーを介して連結されるデュアルＣＡＲを含む細胞の例示的な例が、図４に示される。具体的には、図４は、細胞の表面上で発現される、第１のデュアルＣＡＲ（４０３及び４０４）を含む第１のポリペプチド及び第２のデュアルＣＡＲ（４０５及び４０６）を含む第２のポリペプチドを含む、細胞表面、例えば、細胞膜によって隔てられた細胞内（４０１）及び細胞外（４０２）空間を含む細胞を示し、ここで、第１のデュアルＣＡＲは、第１のＣＡＲ又はその部分（４０３）に連結された第２のＣＡＲ又はその部分（４０４）を含み、第２のデュアルＣＡＲは、第２のＣＡＲ又はその部分（４０４）に連結された第１のＣＡＲ又はその部分（４０３）を含む。細胞は、デュアルＣＡＲを含む任意の好適な数のポリペプチド、例えば、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、若しくは９及び／又は１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２つ以下のポリペプチド、例えば、１～１０個のポリペプチド、好ましくは、１～５つのポリペプチド、より好ましくは、１～５つのポリペプチド、さらにより好ましくは、１～３つのポリペプチドを含み得る。デュアルＣＡＲは、ＣＡＲ又はその部分の任意の好適な組合せを含み得る。さらなるデュアルＣＡＲ、例えば、第２、第３などのデュアルＣＡＲは、第１の及び／又はさらなるデュアルＣＡＲと異なるＣＡＲ又はその部分の任意の好適な組合せを含み得る。

【００４１】

特定の実施形態において、第１及び／又は第２のＣＡＲ又はその部分又はデュアルＣＡＲを含む第１及び／又は第２のポリペプチドは、分泌され得る。例示的な例が、図５に示される。具体的には、図５は、細胞の表面上で発現される第１のＣＡＲ又はその部分（５０３）を含む第１のポリペプチド及び細胞の細胞内空間（５０１）において発現され、細胞の細胞外空間（５０２）に分泌される第２のＣＡＲ又はその部分（５０４）を含む第２のポリペプチドを含む、細胞表面、例えば、細胞膜によって隔てられた細胞内空間（５０１）及び細胞外空間（５０２）を含む細胞を示す。細胞は、ＣＡＲ又はその部分を含む、任意の好適な数の分泌されたポリペプチド、例えば、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、若しくは９及び／又は１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２つ以下の分泌されたポリペプチド、例えば、１～１０個の分泌されたポリペプチド、好ましくは、１～５つの分泌されたポリペプチド、より好ましくは、１～５つの分泌されたポリペプチド、さらにより好ましくは、１～３つの分泌されたポリペプチドを含み得る。

【００４２】

特定の実施形態において、細胞は、ヒト細胞、例えば、ヒト免疫細胞、例えば、好中球、好酸球、好塩基球、肥満細胞、単球、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、リンパ球、又はそれらの組合せ、好ましくは、Ｔ細胞、及び／又はヒト幹細胞、例えば、ヒト万能性、多能性幹細胞、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞、造血幹細胞、ＣＤ３４＋細胞、又はそれらの組合せ、好ましくは、造血幹細胞、より好ましくは、ＣＤ３４＋幹細胞、さらにより好ましくは、人工多能性幹細胞（ｉＰＳＣ）を含む。特定の実施形態に

おいて、細胞は、同種異系細胞を含む。

【００４３】

Ｄ．ＣＡＲを含む細胞集団

細胞が２つ以上のポリヌクレオチドを含む特定の実施形態において、第１のＣＡＲ若しくはその部分及び／又はデュアルＣＡＲを含む第１のポリペプチドをコードする第１のポリヌクレオチド及び／又は第２のＣＡＲ若しくはその部分及び／又はデュアルＣＡＲを含む第２のポリペプチドをコードする第２のポリヌクレオチドを含む１つ以上の細胞集団を含む組成物が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、組成物は、単一の細胞集団を含み、ここで、細胞のそれぞれが、第１及び第２のポリヌクレオチドの両方を含む。特定の実施形態において、複数の細胞集団を含む組成物が、本明細書において提供され、ここで、各細胞集団が、異なる組のポリヌクレオチドを含む。一般に、少なくとも１つの細胞集団は、第１及び第２のポリヌクレオチドの両方を含まない１つ以上のさらなる細胞集団に加えて、第１及び第２のポリヌクレオチドの両方を含む。細胞集団は、上記のＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドを含む細胞のセクションに記載されるような細胞のいずれか１つを含み得る。例示的な例が、図３に示される。具体的には、図３は、第１又は第２のポリヌクレオチドのいずれかを含まない標的細胞（３０１）を示し、それによって、好適なゲノム操作技術を用いた第１及び第２のポリヌクレオチドのゲノムにおける好適な位置けの導入が、以下の４つの可能な細胞集団をもたらす：（３０１）第１又は第２のポリヌクレオチドのいずれも、ゲノムにおける好適な位置に導入されなかった細胞；（３０２）第１のポリヌクレオチドが、ゲノムにおける好適な位置に導入されたが、第２のポリヌクレオチドは、ゲノムにおける好適な位置に導入されなかった細胞；（３０３）第２のポリヌクレオチドが、ゲノムにおける好適な位置に導入されたが、第１のポリヌクレオチドは、ゲノムにおける好適な位置に導入されなかった細胞；及び（３０４）第１及び第２のポリヌクレオチドの両方が、ゲノムにおける好適な位置に導入された細胞。任意の好適な数のポリヌクレオチドが、ゲノム中に導入され、したがって、任意の好適な数の可能な細胞集団をもたらし得る。特定の実施形態において、複数の細胞集団は、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０、若しくは４５及び／又は２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０、４５、若しくは５０以下の集団、例えば、１～５０の細胞集団、好ましくは、１～２０の細胞集団を含む。

【００４４】

特定の実施形態において、複数の細胞集団における各細胞集団が、他の細胞集団に対して任意のパーセンテージで存在することができ、ここで、各集団の相対的パーセンテージが、限定はされないが、編集成分の送達効率、編集成分の質、編集成分の濃度、編集イベントの相対的効率及び特異性、細胞の活力、及び／又は１つ以上のゲノム修飾の前若しくは後の細胞の活力を含む多くの要因によって影響される。特定の実施形態において、第１の細胞集団は、複数の細胞集団中の細胞の全ての少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、若しくは７０％及び／又は２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、若しくは７５％以下、例えば、複数の細胞集団中の細胞の全ての１～７５％、好ましくは、５～７５％、より好ましくは、１０～７５％、さらにより好ましくは、１５～７５％、さらに一層より好ましくは、２０～７５％を含む。特定の実施形態において、第２の細胞集団は、複数の細胞集団中の細胞の全ての少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、若しくは７０％及び／又は２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、若しくは７５％以下、例えば、複数の細胞集団中の細胞の全ての１～７５％、好ましくは、５０％以下、より好ましくは、３０％以下、さらにより好ましくは、２０％以下、さらに一層より好ましくは、１０％以下を含む。特定の実施形態において、第

３の細胞集団は、複数の細胞集団中の細胞の全ての少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、若しくは７０％及び／又は２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、若しくは７５％以下、例えば、複数の細胞集団中の細胞の全ての１～７５％、好ましくは、５０％以下、より好ましくは、３０％以下、さらにより好ましくは、２０％以下、さらに一層より好ましくは、１０％以下を含む。特定の実施形態において、第４の細胞集団は、複数の細胞集団中の細胞の全ての少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、若しくは７０％及び／又は２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、若しくは７５％以下、例えば、複数の細胞集団中の細胞の全ての１～７５％、好ましくは、５０％以下、より好ましくは、３０％以下、さらにより好ましくは、２０％以下、さらに一層より好ましくは、１０％以下を含む。複数の細胞集団における各細胞集団のパーセンテージの合計が１００％になることが理解される。

【００４５】

複数の細胞集団中の細胞集団の数、相対存在度、及び／又は同一性は、任意の好適な方法によって測定され得る。特定の実施形態において、複数の細胞集団中の細胞集団の数、相対存在度、及び／又は同一性は、１つ以上の方法、例えば、ＰＣＲ、マルチプレックスＰＣＲ、ＦＩＳＨ、及び／又はシークエンシングを用いて、試料中の１つ以上の核酸を分析することによって測定され得る。特定の実施形態において、複数の細胞集団中の細胞集団の数及び／又は同一性は、１つ以上の方法、例えば、免疫染色及び顕微鏡法、ＥＬＩＳＡ、プルダウン、及び／又はフローサイトメトリーを用いて、試料中の１つ以上の細胞表面タンパク質及び／又はその欠如を分析することによって測定され得る。

【００４６】

Ｅ．ＣＡＲを含むように細胞を操作するための組成物及び／又はキット

特定の実施形態において、ガイド核酸、核酸誘導型ヌクレアーゼ、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体、及び／又はそれをコードする１つ以上のポリヌクレオチドを含む組成物が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、組成物は、ドナーテンプレートをさらに含む。特定の実施形態において、組成物は、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体、例えば、ポリ－Ｌ－グルタミン酸を安定させた添加剤をさらに含む。特定の実施形態において、組成物の１つ以上の成分が、水性緩衝液の存在下で組み合わされる。特定の実施形態において、組成物は、賦形剤をさらに含む。特定の実施形態において、組成物は、脱水され、例えば、フリーズドライ又は凍結乾燥される。

【００４７】

特定の実施形態において、第１のＣＡＲ若しくはその部分をコードする第１のポリヌクレオチドを含む、第１の核酸誘導型ヌクレアーゼ、第１のガイド核酸、及び／又は第１のドナーテンプレートを含む組成物が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、組成物は、第２のＣＡＲ若しくはその部分をコードする第２のポリヌクレオチドを含む、第２の核酸誘導型ヌクレアーゼ、第２のガイド核酸、及び／又は第２のドナーテンプレートをさらに含む。特定の実施形態において、組成物は、第３のＣＡＲ若しくはその部分をコードする第３のポリヌクレオチドを含む、第３の核酸誘導型ヌクレアーゼ、第３のガイド核酸、及び／又は第３のドナーテンプレートをさらに含む。任意の好適な数のさらなる核酸誘導型ヌクレアーゼ、ガイド核酸、及び／又はドナーテンプレートが、導入されるゲノム修飾の数に応じて使用され得る。言い換えると、組成物は、核酸誘導型ヌクレアーゼ（Ｎ）$_{x}$、ガイド核酸（ｇＮＡ）$_{x}$、及び／又はドナーテンプレート（Ｄ）$_{x}$を含むことができ、ここで、整数（ｘ）は、ゲノムの好適な位置に導入されるゲノム修飾を表す。例えば、単一のゲノム修飾（ｘ＝１）については、組成物は、第１の核酸誘導型ヌクレアーゼ（Ｎ）$_{1}$、第１のガイド核酸（ｇＮＡ）$_{1}$、及び／又は第１のドナーテンプレート（Ｄ）$_{1}$を含む。複数のゲノム修飾については、ｘが、任意の好適な整数、例えば、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、若しくは４０及び／

又は５０、４０、３０、２０、１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２以下であり得、ここで、組成物は、好適な数の各成分を含む。特定の実施形態において、複数のゲノム修飾、２つ以上が、連続して生成され得る。特定の実施形態において、複数のゲノム修飾は、同時に生成され得る。方法は、以下のＣＡＲを含むように細胞を操作するための方法のセクションにさらに記載される。

【００４８】

核酸誘導型ヌクレアーゼは、任意の好適なヌクレアーゼ、例えば、ホーミングエンドヌクレアーゼ、ＴＡＬＥＮ、メガヌクレアーゼ、アルゴノート、及び／又はＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓヌクレアーゼ、好ましくは、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓヌクレアーゼ、より好ましくは、クラス１又はクラス２　Ｃａｓヌクレアーゼ、さらにより好ましくは、クラス２ヌクレアーゼ、さらにより好ましくは、Ｖ－Ａ、Ｖ－Ｂ、Ｖ－Ｃ、Ｖ－Ｄ、又はＶ－Ｅ型、さらにより好ましくは、Ｖ－Ａ型ヌクレアーゼであり得る。特定の実施形態において、核酸誘導型ヌクレアーゼは、ＭＡＤ、ＡＲＴ、又はＡＢＷヌクレアーゼ、例えば、ＭＡＤ１、ＭＡＤ２、ＭＡＤ３、ＭＡＤ４、ＭＡＤ５、ＭＡＤ６、ＭＡＤ７、ＭＡＤ８、ＭＡＤ９、ＭＡＤ１０、ＭＡＤ１１、ＭＡＤ１２、ＭＡＤ１３、ＭＡＤ１４、ＭＡＤ１５、ＭＡＤ１６、ＭＡＤ１７、ＭＡＤ１８、ＭＡＤ１９、ＭＡＤ２０、ＡＲＴ１、ＡＲＴ２、ＡＲＴ３、ＡＲＴ４、ＡＲＴ５、ＡＲＴ６、ＡＲＴ７、ＡＲＴ８、ＡＲＴ９、ＡＲＴ１０、ＡＲＴ１１、ＡＲＴ１１＊、ＡＲＴ１２、ＡＲＴ１３、ＡＲＴ１４、ＡＲＴ１５、ＡＲＴ１６、ＡＲＴ１７、ＡＲＴ１８、ＡＲＴ１９、ＡＲＴ２０、ＡＲＴ２１、ＡＲＴ２２、ＡＲＴ２３、ＡＲＴ２４、ＡＲＴ２５、ＡＲＴ２６、ＡＲＴ２７、ＡＲＴ２８、ＡＲＴ２９、ＡＲＴ３０、ＡＲＴ３１、ＡＲＴ３２、ＡＲＴ３３、ＡＲＴ３４、及び／又はＡＲＴ３５ヌクレアーゼ、ＭＡＤ２、ＭＡＤ７、ＡＲＴ１１、ＡＲＴ１１＊、又はＡＲＴ２ヌクレアーゼのアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９、又は１００％同一であるアミノ酸配列、好ましくは、ＭＡＤ２、ＭＡＤ７、ＡＲＴ２、ＡＲＴ１１、又はＡＲＴ１１＊のアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９、又は１００％同一であるアミノ酸配列、より好ましくは、配列番号３７のアミノ酸配列と少なくとも８８０、８５、９０、９５、９９、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、核酸誘導型ヌクレアーゼは、１つ以上の核局在化シグナル（ＮＬＳ）、例えば、１、４、又は５つの核局在化シグナル、例えば、カルボキシ末端における１～５つのＮＬＳ、アミノ末端における１～５つのＮＬＳ、又はそれらの組合せ、好ましくは、１つのＮ末端ＮＬＳ及び３つのＣ末端ＮＬＳを含む。特定の実施形態において、ＮＬＳは、配列番号４０～５６のいずれか１つ、好ましくは、配列番号４０、５１、及び５６を含む。さらなるヌクレアーゼ及びその修飾が、以下のＣａｓタンパク質のセクションにおいて見られる。

【００４９】

ガイド核酸は、核酸誘導型ヌクレアーゼと適合する任意のｇＮＡであり得る。特定の実施形態において、ガイド核酸は、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸、例えば、デュアルガイド核酸を含む。特定の実施形態において、ターゲッター核酸は、ターゲッターステム配列及びスペーサー配列を含むターゲッター核酸を含む。特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、ターゲッターステム配列に相補的なモジュレーターステム配列、及び、任意に、５’配列を含む。特定の実施形態において、ガイド核酸は、単一のポリヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、ガイド核酸は、操作された非天然ガイド核酸を含む。好ましい実施形態において、ガイド核酸は、デュアルガイド核酸（以下のガイド核酸のセクションに記載されるような）を含み、ここで、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、別個のポリヌクレオチドである。ガイド核酸がデュアルガイド核酸である特定の実施形態において、ターゲッター核酸のステム及びモジュレーター核酸のステムは加水分解する。特定の実施形態において、デュアルガイド核酸は、核酸誘導型ヌクレアーゼに結合し、それを活性化することが可能であり、これは、天然システム中で、ｔｒａｃｒＲＮＡの非存在下で単一のｃＲＮＡによって活性化される。特定の実施形態において、ガイド核酸は、ドナーリクルート配列を含む。ｇＮＡは、任意の好適なスペーサー配列を含む。特定の実施形態において、ｇＮＡは、表２に示されるようなスペーサー配列を

含む。

【００５０】

【表８】

表2: スペーサー配列

配列番号	名称	配列
125	Tap1_001	GATTTCGCTTTCCCCTAAATG
126	Tap1_002	GCTTTCCCCTAAATGGCTGAG
127	Tap1_003	CCCTAAATGGCTGAGCTTCTC
128	Tap1_004	CGAGAGCCCCGCCCTCGTTCC
129	Tap1_005	GCTCTTGGAGCCAACCGTTGC
130	Tap1_006	AAGCCATTAGCTGCGGCACTG
131	Tap1_007	TGCCACAGGGCTGCTGCGGGC
132	Tap1_008	CAGAGCCGCCCTGACCGCCGG
133	Tap1_009	TCCAGGGGAGATGGCCATTCC
134	Tap1_010	CGGGCCGCCTCACTGACTGGA
135	Tap1_011	GAGTGAAGGTATCGGCTGAGC
136	Tap1_012	AGCCCCCAGACCTGGCTATGG

【００５１】

【表９】

配列番号	名称	配列
137	Tap1_013	CGGGTTCTTTATAGTGCAGTG
138	Tap1_014	TAGTGCAGTGCTGGAGTTCGT
139	Tap1_015	GGGCTGTCCTGCGCCAGGAGA
140	Tap1_016	AGGAGAAACCTGTCTGGTTCT
141	Tap1_017	CAACAGAACCAGACAGGTTTC
142	Tap1_018	TGTGGTACCTGGTGCGAGGCC
143	Tap1_019	CCACCTTCTTGGGCAGAAGGA
144	Tap1_020	CTTCTGCCCAAGAAGGTGGGA
145	Tap1_021	CCAGAGATTCCCGCACCTGCA
146	Tap1_022	CCTAAACTTCTGGGCTTCGCC
147	Tap1_023	CCAACGAGGAGGGCGAAGCCC
148	Tap1_024	TTGCAGCTTTTCCCTAAACTT
149	Tap1_025	TTTCTTGCAGCTTTTCCCTAA
150	Tap1_026	GGGAAAAGCTGCAAGAAATAA
151	Tap1_027	AGCAGCATACCTGAAATCTAT
152	Tap1_028	TGGTCTCTTTATAGATTTCAG
153	Tap1_029	TAGATTTCAGGTATGCTGCTG
154	Tap1_030	AGGTATGCTGCTGAAAGTGGG
155	Tap1_031	TTCTCTACCAGATGCAGTTCA
156	Tap1_032	ACTATTCTTACCTCCCTCTAG
157	Tap1_033	TCTGAGGAGCCCACAGCCTTC
158	Tap1_034	AGTACCTGGACCGCACCCCTC
159	Tap1_035	GGTAGGCAAAGGAGACATCTT
160	Tap1_036	CCTACCCAAACCGCCCAGATG
161	Tap1_037	ATCTCAGGTGGCTGCAGTGGG
162	Tap1_038	TTGAAGACTTCTTCCAAATAC
163	Tap1_039	GAAGAAGTCTTCAAGAAAATA
164	Tap1_040	CTCCATAGTTGGCTTCTGGGT
165	Tap1_041	CTGCAGCAGCTGTGATTTCCT
166	Tap1_042	ATCTCTGGACTCCCTCAGGGC
167	Tap1_043	CTCTGCAGAGGTAGACGAGGC
168	Tap1_044	CGGATCAATGCTCGGGCCAAC
169	Tap1_045	CATCCAGGGCACTGGTGGCAT

【００５２】

【表１０】

配列番号	名称	配列
170	Tap1_046	GTACAGGAGCTGCTCCACCTG
171	Tap1_047	CTCAGGTGGAGCAGCTCCTGT
172	Tap1_048	TGGAAGGAGGCGCTATCCGGG
173	Tap1_049	TCCATGAGCTGCTGGTGGGTT
174	Tap1_050	ATTCTGGAGCATCTGCAGGAG
175	TAP2_001	TCATCTCGTATCCGTTGACAG
176	TAP2_002	CTGTGGCTGCTTCAGGGCCCT
177	TAP2_003	CTTCCTCAAGGGCTGCCAGGA
178	TAP2_004	GCAGCCCCCACAGCCCTCCCA
179	TAP2_005	TGGGGACACTGCTGCTCCCGC
180	TAP2_006	TTGTTCACCTGGTCCTGCTCC
181	TAP2_007	ATGCCTCTTTCAGGTGAGACA
182	TAP2_008	AGGTGAGACATTAATCCCTCA
183	TAP2_009	ACCCCCATGCCTTTGCCAGTG
184	TAP2_010	CCAGTGCCATCTTCTTCATGT
185	TAP2_011	TCCTCCCTGCTGCGCCAGGAC
186	TAP2_012	TTCCAGGAGACTAAGACAGGT
187	TAP2_013	CTCACCTGCTCTGTCCTTCTT
188	TAP2_014	AAGGAAGCCAGTTACTCATCA
189	TAP2_015	ACCAGGCTTCGCAAGAGCACA
190	TAP2_016	AATGCCAATGTGCTCTTGCGA
191	TAP2_017	TCTGCTGCACATGCCCTTCAC
192	TAP2_018	GGGTTCCCTTACATGCACGCT
193	TAP2_019	CTGGCCCTCTTTTCCAGGAAG
194	TAP2_020	CAGGAAGTGCTTCGGGAGATC
195	TAP2_021	TAGCGACAGACTTCATGCTCC
196	TAP2_022	GGGCCGAGGAGCATGAAGTCT
197	TAP2_023	ACAACCACTCTGGTATCTTAC
198	TAP2_024	TTCTCCTCTTCCAGGTGCTGC
199	TAP2_025	CTTTATGATCTACCAGGAGAG
200	TAP2_026	TGATCTACCAGGAGAGCGTGG
201	TAP2_027	CAGACCCTGGTATACATATAT
202	TAP2_028	GCTGTCGGTCCATGTAGGAGA

【００５３】

【表１１】

配列番号	名称	配列
203	TAP2_029	TCCTACATGGACCGACAGCCA
204	TAP2_030	ACAACCCCCTGCAGAGTGGTG
205	TAP2_031	CATATCCCAATCGCCCTGACA
206	TAP2_032	AGGCACCTTGAGCACAGGCCT
207	TAP2_033	CTCCCTCTTTCAGGCACCTTG
208	TAP2_034	TGGTTTTCTAGGGGCTGACGT
209	TAP2_035	TAGGGGCTGACGTTTACCCTA
210	TAP2_036	CCCTACGTCCTGGTGAGGTGA
211	TAP2_037	ATCCAGCAGCACCTGTCCCCC
212	TAP2_038	AGTTGGGCAGGAGCCTGTGCT
213	TAP2_039	CTGGATGAAGTCATCTGCGTG
214	TAP2_040	TAGAAGATACCTGTGTATATT
215	TAP2_041	TCTGATTTCCTCAGATGTAGG
216	TAP2_042	CTCAGATGTAGGGGAGAAGGG
217	TAP2_043	TGTCCCGCAGCCAGCTGGCTT
218	TAPBP_001	CGCTCGCATCCTCCACGAACC
219	TAPBP_002	GCAGAGGCGGGGAGAGGCACG
220	TAPBP_003	CCTACATGCCCCCCACCTCCG
221	TAPBP_004	GGCTAGAGTGGCGACGCCAGC
222	TAPBP_005	CTGCTTGGGATGATGATGAGC
223	TAPBP_006	CGGTCCATGGGCCCCATGGCT
224	TAPBP_007	AGGAGGGCACCTATCTGGCCA
225	TAPBP_008	GGGGGTTCTGGGGAAAGAGGA
226	TAPBP_009	CCTATGCTCATTTCGTCCTCT
227	TAPBP_010	GTCCTCTTTCCCCAGAACCCC
228	TAPBP_011	CCCAGAACCCCCCAAAGTGTC
229	TAPBP_012	AGGGCCCTCCCTTGAGGACAG
230	TAPBP_013	CTGTCTGCCTTTCTTCTGCTT
231	TAPBP_014	TTCTGCTTGGGCTCTTCAAGG
232	TAPBP_015	AATCCTTGCAGGTGGACAGGT
233	TAPBP_016	CCCACAGCTGTCTACCTGTCC
234	PSMB9_001	ACGGGGGCGTTGTGATGGGTT
235	PSMB9_002	CTCACCCTGCAGACACTCGGG

【００５４】

【表１２】

配列番号	名称	配列
236	PSMB9_003	ACAAGCTGTCCCCGCTGCACG
237	PSMB9_004	TTCCTAATATTTCCCTCAGGA
238	PSMB9_005	CCTCAGGATAGAACTGGAGGA
239	PSMB9_006	CAGCAGCCAAAACAAGTGGAG
240	PSMB9_007	TCACCACATTTGCAGCAGCCA
241	PSMB9_008	TAGCTGATATTTCTCACCACA
242	PSMB9_009	GCTGCTGCAAATGTGGTGAGA
243	PSMB9_010	GGAGAAACTCACCTGACCTCC
244	PSMB9_011	ACCTGAGGATCCCTTTCCCAG
245	PSMB9_012	CCAGGTATATGGAACCCTGGG
246	PSMB9_013	CCATTGGTGGCTCCGGCAGCA
247	PSMB9_014	TCTATGGTTATGTGGATGCAG
248	PSMB9_015	GCAGTTCATTGCCCAAGATGA
249	PSMB8_001	TCTATGCGATCTCCAGAGCTC
250	PSMB8_002	CCCCGGGGAATGCAGGTCGGG
251	PSMB8_003	TCAACCTCTTTTCTCTTATCA
252	PSMB8_004	TCTTATCAGCCCACAGAATTC
253	PSMB8_005	TCCGTCCCCACCCAGGGACTG
254	PSMB8_006	CTCACTCCACCTTGTCCTCAC
255	PSMB8_007	GCAGATAGTACAGCCTGGGTG
256	PSMB8_008	AGTGTCGGCAGCCTCCAAGCT
257	PSMB8_009	AGCCTGAAATCTTTCATCTTA
258	PSMB8_010	ATCTTATAGGGTCCTGGACTC
259	PSMB8_011	CTGAGAGCCGAGTCCCATGTT
260	PSMB8_012	TCATTTGTCCACAGTGTACCA
261	PSMB8_013	ACCCAACCATCTTCCTTCATG
262	PSMB8_014	TCCACAGTGTACCACATGAAG
263	PSMB8_015	TACTTTCACCCAACCATCTTC
264	MCL1_001	TCAGCCAGGCGGCGGCGGCGA
265	MCL1_002	AGGCCAAACATTGCCAGTCGC
266	MCL1_003	TTTTGAGGCCAAACATTGCCA
267	MCL1_004	GCCTCAAAAGAAACGCGGTAA
268	MCL1_005	GCTACGGAGAAGGAGGCCTCG

【００５５】

【表１３】

配列番号	名称	配列
269	MCL1_006	TTCGCGCCCACCCGCCGCGCG
270	MCL1_007	TGTCCTTGGCGCCGGTGGCCT
271	MCL1_008	ATGTCCAGTTTCCGAAGCATG
272	MCL1_009	TTTCTCAGGCATGCTTCGGAA
273	MCL1_010	TCAGGCATGCTTCGGAAACTG
274	MCL1_011	ACATCGTCTTCGTTTTTGATG
275	MCL1_012	TTACGCCGTCGCTGAAAACAT
276	MCL1_013	AGCGACGGCGTAACAAACTGG
277	MCL1_014	GCCACAAAGGCACCAAAAGAA
278	MCL1_015	TGGTCTTCAAGTGTTTAGCCA
279	MCL1_016	TTTTGGTGCCTTTGTGGCTAA
280	MCL1_017	GTGCCTTTGTGGCTAAACACT
281	MCL1_018	TTGGTTTATGGTCTTCAAGTG
282	MCL1_019	TGGCTAAACACTTGAAGACCA
283	MCL1_020	TGCTAATGGTTCGATGCAGCT
284	MCL1_021	TCCTTACGAGAACGTCTGTGA
285	MCL1_022	ACTAGCCAGTCCCGTTTTGTC
286	MCL1_023	TTTAACTAGCCAGTCCCGTTT
287	MCL1_024	ATCCTTAAGGCAAACTTACCC
288	MCL1_025	TTTTTTGTTTTCTAGGATGGG
289	MCL1_026	TTTTCTAGGATGGGTTTGTGG
290	MCL1_027	TAGGATGGGTTTGTGGAGTTC
291	MCL1_028	TGGAGTTCTTCCATGTAGAGG
292	MCL1_029	CAGGTGTTGCTGGAGTAGGAG
293	MCL1_030	GCATATCTAATAAGATAGCCT
294	PSMB5_001	TGCCCACACTAGACATGGCGC
295	PSMB5_002	GGACTTGGGGGTCGTGCAGAT
296	PSMB5_003	GATTCCTGGCTCTTCTGGGAC
297	PSMB5_004	TGTTTTCCTCTGATCTTAACA
298	PSMB5_005	CTCTGATCTTAACAGTTCCGC
299	PSMB5_006	GAAGCTCATAGATTCGACATT
300	PSMB5_007	GAGGCAGCTGCTACAGAGATG
301	PSMB5_008	TACTGATACACCATGTTGGCA

【００５６】

【表１４】

配列番号	名称	配列
302	PSMB5_009	CTGCTAACCTCATCTCCCTTT
303	PSMB5_010	CAGGCCTCTACTACGTGGACA
304	PSMB5_011	AGGGGCCACCTTCTCTGTAGG
305	PSMB5_012	AGGGGGTAGAGCCACTATACT
306	CALR_001	GATTCGATCCAGCGGGAAGTC
307	CALR_002	CCAAAATCTGACTTGTGTTTG
308	CALR_003	GCAAATTCGTTCTCAGTTCCG
309	CALR_004	TCCTCGTCACCGTAGAACTTG
310	CALR_005	TCTTTCTCCTCGTCACCGTAG
311	CALR_006	CAGACAAGCCAGGATGCACGC
312	CALR_007	TTGCTGAAAGGCTCGAAACTG
313	CALR_008	TGCTCTGTCGGCCAGTTTCGA
314	CALR_009	GAGCCTTTCAGCAACAAAGGC
315	CALR_010	AGCAACAAAGGCCAGACGCTG
316	CALR_011	ACCGTGAACTGCACCACCAGC
317	CALR_012	CTAATAGTTTGGACCAGACAG
318	CALR_013	GACCAGACAGACATGCACGGA
319	CALR_014	CCACCACCCCCAGGCACACCT
320	CALR_015	CACACCTGTACACACTGATTG
321	CALR_016	TCTTCTTGGGTGGCAGGAAGT
322	CALR_017	AAGCATCAGGATCCTTTATCT
323	CALR_018	CTTCTCCCTTCTGCAGGGTGA
324	CALR_019	TGGGTGGATCCAAGTGCCCTT
325	CALR_020	GCGTGCTGGGCCTGGACCTCT
326	CALR_021	CTCCAAGTCTCACCTGCCAGA
327	CALR_022	ACAACTTCCTCATCACCAACG
328	CALR_023	TTACGCCCCACGTCTCGTTGC
329	CALR_024	GCAACGAGACGTGGGGCGTAA
330	CALR_025	TCCTTCATTTGTTTCTCTGCT
331	CALR_026	TTGTCTTCTTCCTCCTCCTTA
332	CALR_027	CGTTTCTTGTCTTCTTCCTCC
333	CALR_028	TCCTCATCATCCTCCTTGTCC
334	APLNR_001	ACAACTACTATGGGGCAGACA

【００５７】

【表１５】

配列番号	名称	配列
335	APLNR_002	CAGTCTGTGTACTCACACTCA
336	APLNR_003	GGAGCAGCCGGGAGAAGAGGC
337	APLNR_004	GGACCTTCTTCTGCAAGCTCA
338	APLNR_005	GGTGCTGGCCGCCCTCCTGGC
339	APLNR_006	TGGTGCCCTTCACCATCATGC
340	APLNR_007	GGCGATGAAGAAGTAACAGGT
341	APLNR_008	CCCTGTGCTGGATGCCCTACC
342	APLNR_009	ACCTCTTCCTCATGAACATCT
343	APLNR_010	GACCCCCGCTTCCGCCAGGCC
344	APLNR_011	TCGTGCATCTGTTCTCCACCC
345	BBS1_001	CCCCACTTCCAGCAATGAGGC
346	BBS1_002	GCCCTTTTGTTTTCCAGCGCT
347	BBS1_003	TTTTCCAGCGCTGGCAGATTT
348	BBS1_004	CAGCGCTGGCAGATTTACATG
349	BBS1_005	CATGGGGATGGGGAATACAAG
350	BBS1_006	AGCACCTTCAGGCGGGGCTGC
351	BBS1_007	GGTCATCACCAGTGGTCCTTT
352	BBS1_008	GAGGCAATTGGGGCAGGCTGA
353	BBS1_009	GCCTGGTTCCAAAGGTCTTGT
354	BBS1_010	CCTCTTTGGCCTGGTTCCAAA
355	BBS1_011	TTTACCTCTTTGGCCTGGTTC
356	BBS1_012	GAACCAGGCCAAAGAGGTAAA
357	BBS1_013	CTTGCAGGGAGACGGCAGAGG
358	BBS1_014	TCCATCCAGTCACTCAGGTAA
359	BBS1_015	ACTTAGCTCCAGCTGCAGAAA
360	BBS1_016	CAAATGCCTCCATTTCACTTA
361	BBS1_017	TGCAGCTGGAGCTAAGTGAAA
362	BBS1_018	TAAACCAACACAAGTCCAACT
363	BBS1_019	CGCTTCTTGTTTGCAGATGAG
364	BBS1_020	CAGATGAGCCTTCCCAGCGTC
365	BBS1_021	TGGCCAGTTTGATGTTGAGTT
366	BBS1_022	CATTGCGGCAGGCCGCGGCAA
367	BBS1_023	ATGTTGAGTTCCGGCTTGCCG

【００５８】

【表１６】

配列番号	名称	配列
368	BBS1_024	TTCCACAGAGACTCCAAGCAC
369	BBS1_025	TCGTGACAAGGCCCTGCTCAA
370	BBS1_026	CTTTGGCCGGTACGGGCGGGA
371	BBS1_027	GCCGGTACGGGCGGGAGGACA
372	BBS1_028	CACTGTCCACTTCCCTAGGTG
373	BBS1_029	TAGAGGGAGGAAGTGAGGTGG
374	BBS1_030	ATGGCCTGGGCTGGTGGGGGA
375	BBS1_031	GGGGCACATTGAGTTTCATGG
376	BBS1_032	CGTGGATCAGACACTGCGAGA
377	BBS1_033	TCCACCCACCCTCTCCATAGG
378	BBS1_034	AGCTCACACTTCACCTGCAGA
379	BBS1_035	TCCCCAAACTTAGGTACCCTT
380	BBS1_036	TGGAGAGTCTCAGTAACAAGG
381	BBS1_037	GCCTTCTCGAAGCACCAGCAC
382	BBS1_038	ACAGCAGCTCAGGTCTCAGGC
383	RFX5_001	TTCTGCACGGCCTTGCTGTGG
384	RFX5_002	TCCTCTTCCCCACAGCAAGGC
385	RFX5_003	TCCTGCCTCTGTTCTCTCCTA
386	RFX5_004	TGTACATCTTGCTGAGGTAGG
387	RFX5_005	TGACAATGACAAGCTGTATCT
388	RFX5_006	TCTCCAGTGGTGGGTCCTGAG
389	RFX5_007	TTTCTGTAGCTCAGAGCCAAG
390	RFX5_008	TGTAGCTCAGAGCCAAGTACA
391	RFX5_009	GCAGACAGGTGTCAGTGTGCT
392	RFX5_010	CTTTGGCAGACAGGTGTCAGT
393	RFX5_011	ATGTCAGGGAAGATCTCTCTG
394	RFX5_012	GCAAGATCATCAGAGAGATCT
395	RFX5_013	ACTTGCATCAGATATTGCTAC
396	RFX5_014	GGTCAAGTCCAGGCAGGGGTG
397	RFX5_015	GTACTTACACTCTCAGAACCC
398	RFX5_016	AGGATCCGCTCTGCCCAGTCA
399	RFX5_017	GTACCTCTGCAGAAGAGGACG
400	RFX5_018	GATGACCGTTCCCGAGGTGCA

【００５９】

【表１７】

配列番号	名称	配列
401	RFX5_019	GTTTAGATGACCGTTCCCGAG
402	RFX5_020	GAGAACCCAGAGGGTGGAGCC
403	RFX5_021	CTTTTTAGCCTCCTAAGGATC
404	RFX5_022	GCCTCCTAAGGATCTGGAAGC
405	RFX5_023	AGGGCACCTGAAGAAAGCCTG
406	RFX5_024	TTCAGGTGCCCTGAAAGTGGC
407	RFX5_025	CCTGGACCTGGACCTGGGCCT
408	RFX5_026	GCTGGTGGAGCCTGCCCACTG
409	RFX5_027	CTGCTTTAGCTGGTGGAGCCT
410	RFX5_028	GCATCACTTGCTGTATCCTCT
411	RFX5_029	CTTTTGGCATCACTTGCTGTA
412	RFX5_030	GAGGGCGCCCCCGTTTCCTTT
413	RFX5_031	CCCACTTCCACCTGACTTTTT
414	RFX5_032	AGCCTCTCCCATTGGCCCTGG
415	RFX5_033	GAAACAGTACCATCTCCCTGA
416	RFX5_034	GTATGCTGGGAACCGGGGCCC
417	RFX5_035	CAAAGGAGGAAGGGGCCCCGG
418	RFX5_036	TCTTCTGCTTCTTTGGTATGC
419	RFX5_037	AGGGGACCAAGGGAATTTTAT
420	RFX5_038	GCTTCTGCTGCCCTTGATGAC
421	RFX5_039	CCAAAGGAAAAGCCTCCTTTT
422	RFX5_040	CTTTGGCAAAGGGAGAGGTAG
423	RFX5_041	TTACCCTGTGGTGCAGTGTCT
424	RFX5_042	GCAAAGGGAGAGGTAGACACT
425	RFX5_043	AGTCTTTATTACCCTGTGGTG
426	RFX5_044	AAGCACATGCTCCTTTAAGTC
427	RFX5_045	TGCTCCTGGGATAAGGAACTT
428	RFX5_046	GGTCTTTATGCTCCTGGGATA
429	RFXAP_001	GAGGATCTAGAGGACGAGGAG
430	RFXAP_002	CGCTGCTTGGCCACCTGGCTC
431	RFXAP_003	TTGCACATCCACGGTTTGCGC
432	RFXAP_004	TACTTGTCCTTGTACATCTTG
433	RFXAP_005	CCGCGCTGCCAGTCGAGGCAG

【００６０】

【表１８】

配列番号	名称	配列
434	RFXAP_006	ACGTTTCCCGCGCTGCCAGTC
435	RFXAP_007	CATTTTTATCATTTATCCCAG
436	RFXAP_008	TCATTTATCCCAGGAAAGTGC
437	RFXAP_009	ACAATGGAGAGTATGTTATCT
438	RFXAP_010	TCCCAGGAAAGTGCAGATAAC
439	RFXAP_011	TTTAACAATGGAGAGTATGTT
440	RFXAP_012	GGGATCGTCCTGCAAGACCTA
441	RFXAP_013	ACACTTGTTCTAAAAGAGTAG
442	RFXAP_014	ATTTAACACTTGTTCTAAAAG
443	RFXAP_015	CCAGTCTTTTTTGATTTAACA
444	RFXAP_016	GAACAAGTGTTAAATCAAAAA
445	RFXAP_017	CAAACAGATATTTACCAGTCT
446	RFXAP_018	TTTTCTTTCTAAGTCGTTACT
447	RFXAP_019	TTTCTAAGTCGTTACTAAGAA
448	RFXAP_020	TAAGTCGTTACTAAGAAGTCC
449	RFXAP_021	TGTAAAAATTGCACTACTTCT
450	RFXAP_022	ATAGCTGTTGCTGTTTCTGTA
451	RFXAP_023	CAGAAACAGCAACAGCTATTA
452	RFXAP_024	CTCCAAAACTTGCTGATTTAA
453	RFXAP_025	GAGCAAAGACAACAGCAGTTT
454	RFXAP_026	CAGGAACATCAATGTGAGGGA
455	RFXANK_001	CCCATGGAGCTTACCCAGCCT
456	RFXANK_002	CCTGCACCCCTGAGCCTGTGA
457	RFXANK_003	CCAGCAGGCAGCTCCCTGAAG
458	RFXANK_004	CGCAAATGCTCCTTCAGCTGG
459	RFXANK_005	GAGAGATTGAGACCGTTCGCT
460	RFXANK_006	CCAGGATGTGGGGGTCGGCAC
461	RFXANK_007	TCCTGCCCCTACCCACGACAG
462	RFXANK_008	ACGTGGTTCCCGCGCACAGCG
463	RFXANK_009	CAGCCCGAGGCGCTGACCTCA
464	RFXANK_010	CGGTATCCCAGGGCCACGGCA
465	RFXANK_011	CCTGCCCCATCTCAGTGCAAC
466	CD58_001	TTGGGAAAAACAGCTGATGAA

【００６１】

【表１９】

配列番号	名称	配列
467	CD58_002	TCTCCTAGGTTTCATCAGCTG
468	CD58_003	ATCAGCTGTTTTTCCCAACAA
469	CD58_004	CCAACAAATATATGGTGTTGT
470	CD58_005	AAGGCACATTGCTTGGTACAT
471	CD58_006	CATGTACCAAGCAATGTGCCT
472	CD58_007	CATAGGACCTCTTTTAAAGGC
473	CD58_008	TTTTTTCCATAGGACCTCTTT
474	CD58_009	TCCTTTTGTTTTTTCCATAGG
475	CD58_010	AAAGAGGTCCTATGGAAAAAA
476	CD58_011	CAGTTCTGCAACTTTATCCTT
477	CD58_012	AAAGATGAGAAAGCTCTGAAT
478	CD58_013	TCATCTTTTAAAAATAGGGTT
479	CD58_014	AAAATAGGGTTTATTTAGACA
480	CD58_015	TTTAGACACTGTGTCAGGTAG
481	CD58_016	GACACTGTGTCAGGTAGCCTC
482	CD58_017	ATACTCATCTTCATCTGATGA
483	CD58_018	GCGATTCCATTTCATACTCAT
484	CD58_019	CAGAGTCTCTTCCATCTCCCA
485	CD58_020	CATTGCTCCATAGGACAATCC
486	CD58_021	CATCTTAAAATATATACTGGT
487	CD58_022	TGGAAGATCATTTTCCATCTT
488	CD58_023	AGATGGAAAATGATCTTCCAC
489	CD58_024	ATACAACATCATCAATCATTT
490	CD58_025	CTCACCGCTGCTTGGGATACA
491	CD58_026	GTTATTTACTCACCGCTGCTT
492	CD58_027	ACAACCTGTATCCCAAGCAGC
493	CD58_028	TAGGTCATTCAAGACACAGAT
494	CD58_029	AAAAGCATACATACCATTCAT
495	CD58_030	TTTTAAAAAGCATACATACCA
496	CD58_031	TGTCACATTTCAGAATACCTA
497	CD58_032	TTCATTTTTAGGTATTCTGAA
498	CD58_033	GGTATTCTGAAATGTGACAGA
499	COL17A1_001	TTTTTCTTGGTTACATCCATA

【００６２】

【表２０】

配列番号	名称	配列
500	COL17A1_002	CTGCAGGTGGCTATGGTATGG
501	COL17A1_003	TTTGTCTTTTTCTAGTTGTCA
502	COL17A1_004	TCTTTTTCTAGTTGTCACTGA
503	COL17A1_005	TAGTTGTCACTGAAACAGTAA
504	COL17A1_006	GCATAGCCATTGCTGGTCCCG
505	COL17A1_007	TTCCTGGCAGAAGGCGGGACC
506	COL17A1_008	TCCAGCCGGCTCCCTCCACCA
507	COL17A1_009	TTTCTCCAGCCGGCTCCCTCC
508	COL17A1_010	TGTAGCCGCTGCTGCCATGAG
509	COL17A1_011	CCTCTTGCAGCTGGAAGCACA
510	COL17A1_012	AAAGGTTGAGCCTGGGGAGTT
511	COL17A1_013	CTTTCAAAGGTTGAGCCTGGG
512	COL17A1_014	AAAGGAAAACTCACGTTACCC
513	COL17A1_015	ATCCCCTCTCCAGGGAGCTCC
514	COL17A1_016	TTTGTTTCTCAGCATCTTCTT
515	COL17A1_017	ACTCCGTCCTCTGGTTGAAGA
516	COL17A1_018	TTTCTCAGCATCTTCTTCAAC
517	COL17A1_019	TCAGCATCTTCTTCAACCAGA
518	COL17A1_020	ACAGGGACAGAATTGGATGAT
519	COL17A1_021	CTCAAGGGGAGTCGATCGGCA
520	COL17A1_022	TTGGGGATGGGGAGTGTGTTG
521	COL17A1_023	GTCTCCACAGTGCCTTTCTTG
522	COL17A1_024	CAGTGTCAGGCACCTACGATG
523	COL17A1_025	CACCCTGGACTCAGCACATCC
524	COL17A1_026	ACAGTGTTTGGCATGCAGAAC
525	COL17A1_027	GCATGCAGAACAATCTGGCCC
526	COL17A1_028	TTGCAGCATATGGGGTGAAGA
527	COL17A1_029	TTTCTCCCCAGCCTGCACCAC
528	COL17A1_030	TCCCCAGCCTGCACCACAAGT
529	COL17A1_031	TCTAGGATCAGGAACTTGCAG
530	COL17A1_032	CACAAGGACTGCAAGTTCCTG
531	COL17A1_033	GGGTGTCTTCTGAAAAAGAAG
532	COL17A1_034	TTTTTTTAGGGTGTCTTCTGA

【００６３】

【表２１】

配列番号	名称	配列
533	COL17A1_035	AGAAGACACCCTAAAAAAAGA
534	COL17A1_036	GGCCTGAGTCAGCATTGTAGG
535	COL17A1_037	TTCTTACCATTAGCTTCGGCT
536	COL17A1_038	TGGACACAGTCTTCAGGTCTC
537	COL17A1_039	TCCTTTCAGGAGACCTGAAGA
538	COL17A1_040	AGGAGACCTGAAGACTGTGTC
539	COL17A1_041	CCTGTCTCTTTCACAGATATC
540	COL17A1_042	ACAGATATCCACAGCTACGGC
541	COL17A1_043	CCACGTACCCAGAGCAATGAG
542	COL17A1_044	TTGCAGCGGAGGAGGTGAGGA
543	COL17A1_045	TATTCTATCCATGCTGTCCCC
544	COL17A1_046	TCCAGGTCTGCTCCCGCCGCG
545	COL17A1_047	CTGTTCCATCATTAGCTTCTT
546	COL17A1_048	CTTTTTCTTGCAGGAAATCTC
547	COL17A1_049	GGGCCAGGGCTTCCTCGGAGA
548	COL17A1_050	TTGCAGGAAATCTCCGAGGAA
549	COL17A1_051	ATATCTTTCTGGTTTCAGGTG
550	COL17A1_052	GGGCCTGGACTTCCCATGTCA
551	COL17A1_053	TGGTTTCAGGTGACATGGGAA
552	COL17A1_054	AGGTGACATGGGAAGTCCAGG
553	COL17A1_055	CCTTTGTTCCTGCAGGAGATC
554	COL17A1_056	TTCCTGCAGGAGATCGAGGGT
555	COL17A1_057	GTCCTTGTGGACCTGGGTGGC
556	COL17A1_058	ACCCTTTGGTCCTTGTGGACC
557	COL17A1_059	TTACCCACGCTGCCTTTTTGA
558	COL17A1_060	GGAGATCCTGGCATGGAAGGC
559	COL17A1_061	TCTCCAGATCCAGGAGGCCCT
560	COL17A1_062	CCCTTTCTCTCCAGATCCAGG
561	COL17A1_063	TCCTCAGGGGCTGCTGGTGAA
562	COL17A1_064	GGACCCACAGAACCTGGGACA
563	COL17A1_065	CAAGAAGCAGCAAACTGACCT
564	COL17A1_066	TTCTGCCGGGCAGGTCCTGTA
565	COL17A1_067	ACACCAGGAAGTCCTACTTCA

【００６４】

【表２２】

配列番号	名称	配列
566	COL17A1_068	CTTTTTAGGTGACAAAGGACC
567	COL17A1_069	GGTCCTGGTGGTCCCATTGGT
568	COL17A1_070	GGTGACAAAGGACCAATGGGA
569	COL17A1_071	CTTTAGGTGACCAGGGTGAGA
570	COL17A1_072	GGTGACCAGGGTGAGAAAGGA
571	COL17A1_073	TCCTTTGCAGGCGAGCCTGGC
572	COL17A1_074	CAGGCGAGCCTGGCATGAGAG
573	COL17A1_075	GCCCCGGGCTCACCAACAGCA
574	COL17A1_076	CCTGGTGCTGTTGGTGAGCCC
575	COL17A1_077	GAACACTTACCCATTGCTCCT
576	COL17A1_078	CCAGGTCCTGCTGGCCCAGAC
577	COL17A1_079	CTGGGTCTCCAGAAGGTCCTG
578	COL17A1_080	TGCAGGTCTCACAGGACCCCA
579	COL17A1_081	TTCCTGGTCGGCCAGGGGTAC
580	COL17A1_082	GAAATTCACTTACCTTTTATT
581	COL17A1_083	CTCTCTTCCTAGGTGAACCAG
582	COL17A1_084	AGAGGGGTCATCGATGCTCAC
583	COL17A1_085	TTCCTCAACCCCGTTTCCAGG
584	COL17A1_086	CAGGCCCTGCCGGCCCAGCTG
585	COL17A1_087	TATTTTCTTCTCTCTATAGAA
586	COL17A1_088	TTCTCTCTATAGAAGTTCTTA
587	COL17A1_089	CAAGGTCCCCCAGGCCCACCC
588	COL17A1_090	CTAGGGGAGGGTTTGCCAGGC
589	COL17A1_091	CCAGGCCCACCAGGCCCACCA
590	COL17A1_092	CTTCCTCTGCAGAAACCTTCC
591	COL17A1_093	CCTCAGGTCCCCCAGGCCCCA
592	COL17A1_094	ATGCCGGCTCTACTGTACCTT
593	COL17A1_095	GGACTCAACCTTCAGGGACCA
594	COL17A1_096	GGTCCCTGGGGGCCAGGTGGG
595	COL17A1_097	TCACCTTTGGGTCCCTGGGGG
596	COL17A1_098	GATTCCAGGTGATCCAGGTGT
597	COL17A1_099	AGTTCTTACCTTCAGAAGGAC
598	COL17A1_100	GTCACTTTCAGTTCTTACCTT

【００６５】

【表２３】

配列番号	名称	配列
599	COL17A1_101	TCTTTGCTGCAGGGGGATCAT
600	COL17A1_102	CTGCAGGGGGATCATCAAGTA
601	COL17A1_103	CTTTGTTCCTTGGTCGGCAGG
602	COL17A1_104	TTCCTTGGTCGGCAGGTGACA
603	COL17A1_105	GACTACTCAGAGCTGGCAAGC
604	COL17A1_106	TTCCCGACAGCTTCGGGGTAC
605	COL17A1_107	GACTATGCAGAGCTGAGTAGT
606	COL17A1_108	TTTCTCTTCCTTCTGCCCAGC
607	COL17A1_109	TCTTCCTTCTGCCCAGCTGCC
608	COL17A1_110	AGCTGCATAGGTTGCCAGGGC
609	COL17A1_111	GTGAAGCTGCAGGAGACAGGG
610	COL17A1_112	CTGGAGATCTGGATTACAATG
611	COL17A1_113	CAGGTCAGGGCCTACTGCAAG
612	COL17A1_114	GAAGAAGTCCATGAGGTCCGC
613	COL17A1_115	CTTGCTTTTGCAGCTTATGGA
614	COL17A1_116	CCCAGGGGGTCCTTGAATGGC
615	COL17A1_117	CAGCTTATGGAGCCATTCAAG
616	COL17A1_118	GGTCCTGGAGTGCCCATCTCT
617	COL17A1_119	CTTCCAGGTGACAGGGGCCCT
618	COL17A1_120	TCCCTTGTGTCCTCGAGGGCC
619	COL17A1_121	TCTCCTTTTTCTCCCTTGTGT
620	COL17A1_122	AGGTGACCAAGTCTATGCTGG
621	DEFB134_001	CCTGCCAGCACTGGATCCCAA
622	DEFB134_002	TCTTTCTTTTCCTTTGGGATC
623	DEFB134_003	TTTTCCTTTGGGATCCAGTGC
624	DEFB134_004	CTTTGGGATCCAGTGCTGGCA
625	DEFB134_005	GGATCCAGTGCTGGCAGGTAA
626	DEFB134_006	TGATGATAATGAATTTATACC
627	DEFB134_007	CTTCCAGGTATAAATTCATTA
628	DEFB134_008	TTGTGCATTTCTGATGATAAT
629	DEFB134_009	TAGCATTTCTTGTGCATTTCT
630	DEFB134_010	ACTCTCATAGCATTCAAGTCT
631	DEFB134_011	ACACAGCACTCCAGCTGAAAC

【００６６】

【表２４】

配列番号	名称	配列
632	DEFB134_012	CTTTGACACAGCACTCCAGCT
633	DEFB134_013	AGCTGGAGTGCTGTGTCAAAG
634	DEFB134_014	TTATGTCAGGGTGCAGGATTT
635	MLANA_001	AACTTACTCTTCAGCCGTGGT
636	MLANA_002	TCTATCTCTTGGGCCAGGGCC
637	MLANA_003	GTCTTCTACAATACCAACAGC
638	MLANA_004	CCAACCATCAAGGCTCTGTAT
639	MLANA_005	AGCAGTGGGAACTTTACCAAC
640	MLANA_006	TCCTGAAATGTAAATTGATAA
641	MLANA_007	TCAATTTACATTTCAGGATAA
642	MLANA_008	CATTTCAGGATAAAAGTCTTC
643	MLANA_009	AGGATAAAAGTCTTCATGTTG
644	MLANA_010	CTGTCCCGATGATCAAACCCT
645	MLANA_011	TCTTGAAGAGACACTTTGCTG
646	MLANA_012	ATCATCGGGACAGCAAAGTGT
647	MLANA_013	TCAATTTACATTTCAGGATAA
648	MLANA_014	CATTTCAGGATAAAAGTCTTC
649	MLANA_015	AGGATAAAAGTCTTCATGTTG
650	MLANA_016	CTGTCCCGATGATCAAACCCT
651	MLANA_017	TCTTGAAGAGACACTTTGCTG
652	MLANA_018	ATCATCGGGACAGCAAAGTGT
653	MLANA_019	TTGTTCTCACAGGTTCCCAAT
654	MLANA_020	TCATAAGCAGGTGGAGCATTG
655	CD3D_001	TCTCTGGCCTGGTACTGGCTA
656	CD3D_002	CCCTTTAGTGAGCCCCTTCAA
657	CD3D_003	GTGAGCCCCTTCAAGATACCT
658	CD3D_004	TGAATTGCAATACCAGCATCA
659	CD3D_005	CCAGGTCCAGTCTTGTAATGT
660	CD3D_006	TCCTTGTATATATCTGTCCCA
661	CD3D_007	GGAGTCTTCTGCTTTGCTGGA
662	CD3D_008	CTGGACATGAGACTGGAAGGC
663	CD3D_009	TCTTCTCCTCTCTTAGCCCCT
664	CD3D_010	CTCCAAGGTGGCTGTACTGAG

【００６７】

【表２５】

配列番号	名称	配列
665	CD3G_001	CCGGAGGACAGAGACTGACAT
666	CD3G_002	TCATTTCAGGAAACCACTTGG
667	CD3G_003	AGGAAACCACTTGGTTAAGGT
668	CD3G_004	GCTTCTGCATCACAAGTCAGA
669	CD3G_005	AACCATGTGATATTTTTGGCT
670	CD3G_006	TCTTCAGTTAGGAAGCCGATC
671	CD3G_007	AAGATGGGAAGATGATCGGCT
672	CD3G_008	CACTGATACATCCCTCGAGGG
673	CD3G_009	ACTTGTTCTGTGATCCTTTAC
674	CD3G_010	TCTCTCCTTTTCCCTACAGTG
675	CD3G_011	GTTCAATGCAGTTCTGACACA
676	CD3G_012	CCTACAGTGTGTCAGAACTGC
677	CD3G_013	AGCAAAGAGAAAGCCAGATAT
678	CD3G_014	TCTTTGCTGAAATCGTCAGCA
679	CD3G_015	CTGAAATCGTCAGCATTTTCG
680	CD3G_016	GTCCTTGCTGTTGGGGTCTAC
681	CD3G_017	CCTCTCGACTGGCGAACTCCA
682	CD3G_018	TTTTTTGTGCAGCTTCAGACA
683	CD3G_019	TGCAGCTTCAGACAAGCAGAC
684	CD3G_020	TTCTTCATCCCCTTACCTGGT
685	CD3G_021	CAGCCCCTCAAGGATCGAGAA
686	CD3G_022	CTTGAAGGTGGCTGTACTGGT
687	CD3G_023	CAGGTACTTTGGCCCAGTCAA
688	CD247_001	TGAGGGAAAGGACAAGATGAA
689	CD247_002	ACCGCGGCCATCCTGCAGGCA
690	CD247_003	TCTCTTGGCACAGAGGCACAG
691	CD247_004	GGATCCAGCAGGCCAAAGCTC
692	CD247_005	GCCTGCTGGATCCCAAACTCT
693	CD247_006	CTTTCTGTGTTGCAGTTCAGC
694	CD247_007	TGTGTTGCAGTTCAGCAGGAG
695	CD247_008	TTATCTGTTATAGGAGCTCAA
696	CD247_009	CCCCCATCTCAGGGTCCCGGC
697	CD247_010	GACAAGAGACGTGGCCGGGAC

【００６８】

【表２６】

配列番号	名称	配列
698	CD247_011	CTAGCAGAGAAGGAAGAACCC
699	CD247_012	ATCCCAATCTCACTGTAGGCC
700	CD247_013	ACTCCCAAACAACCAGCGCCG
701	CD247_014	TGATTTGCTTTCACGCCAGGG
702	CD247_015	CTTTCACGCCAGGGTCTCAGT
703	CD247_016	ACGCCAGGGTCTCAGTACAGC
704	SOX10_001	CTGGCGCCGTTGACGCGCACG
705	SOX10_002	TTGTGCTGCATACGGAGCCGC
706	SOX10_003	ATGTGGCTGAGTTGGACCAGT
707	SOX10_004	GCATCCACACCAGGTGGTGAG
708	SOX10_005	ACTACTCTGACCATCAGCCCT
709	SOX10_006	GGGCCGGGACAGTGTCGTATA
710	RPL23_001	TTTTTTCCGGCGTTCAAGATG
711	RPL23_002	CGGCGTTCAAGATGTCGAAGC
712	RPL23_003	GCACCAGAGGACCCACCACGT
713	RPL23_004	TATCCACAGGACGTGGTGGGT
714	RPL23_005	CTTGGGTCTTCCGGTAGGAGC
715	RPL23_006	TTTACATTCTTTTGTAGGAGC
716	RPL23_007	CATTCTTTTGTAGGAGCCAAA
717	RPL23_008	TAGGAGCCAAAAACCTGTATA
718	RPL23_009	TTGACTGTGGCCATCACCATG
719	RPL23_010	CCTTTCTTGACTGTGGCCATC
720	RPL23_011	TGAGCTCTGGTTTGCCTTTCT
721	RPL23_012	CTCACCCTTTTTTCTGAGCTC
722	RPL23_013	GTTGTCGAATGACCACTGCTG
723	RPL23_014	TTCTCTCAGTACATCCAGCAG
724	RPL23_015	TACGGTATGACTTTCGTTGTC
725	RPL23_016	TTGTTCACTATGACTCCTGCA
726	RPL23_017	TTTATTTTGAAGATAATGCAG
727	RPL23_018	TTTTGAAGATAATGCAGGAGT
728	RPL23_019	AAGATAATGCAGGAGTCATAG
729	RPL23_020	ATCTCGCCTTTATTGTTCACT
730	RPL23_021	CTACCTTTCATCTCGCCTTTA

【００６９】

【表２７】

配列番号	名称	配列
731	RPL23_022	TTTTATTTTTTTAATGCAGGT
732	RPL23_023	TTTTTTTAATGCAGGTTCTGC
733	RPL23_024	CTACTGGTCCTGTAATGGCAG
734	RPL23_025	ATGCAGGTTCTGCCATTACAG
735	RPL23_026	CAAATATACTGGAGAATCATG
736	RPL23_027	CCTTCCCTTTATATCCACAGG
737	PTCD2_001	GGCCCTCGAATCGAGTTCTCC
738	PTCD2_002	GTGTATCCTGGGGTGGGAGGC
739	PTCD2_003	TTTCTCTGATTTTTAGCTAAA
740	PTCD2_004	TCTGATTTTTAGCTAAAAGAT
741	PTCD2_005	ACCACATTATCTGTAAGTAGG
742	PTCD2_006	ATTTCACCACATTATCTGTAA
743	PTCD2_007	GCTAAAAGATACCTACTTACA
744	PTCD2_008	TTGAAATTCTTTTAATTTCAC
745	PTCD2_009	TTTTGTTGAAATTCTTTTAAT
746	PTCD2_010	AACAAAAGAAAGTGGCTGTTG
747	PTCD2_011	GTGCCAGAAAGATTACATGCA
748	PTCD2_012	AAGTTTCTAAAATACGTTTCT
749	PTCD2_013	TTTTTCAAGTTTCTAAAATAC
750	PTCD2_014	TTCCAGAAACGTATTTTAGAA
751	PTCD2_015	GAAACTTGAAAAAGAAACTGA
752	PTCD2_016	GCCAGTTCCACATGGTCCCGA
753	PTCD2_017	TGTGAGTCTCGGGACCATGTG
754	PTCD2_018	ATTACCAGGTACCATGCAGAG
755	PTCD2_019	TACTCCCCCAAAGTGAAATTT
756	PTCD2_020	ACTTTGGGGGAGTATAAATTT
757	PTCD2_021	GGGGAGTATAAATTTGGACCG
758	PTCD2_022	GACCGCTTTTTGTGAGGTTGT
759	PTCD2_023	TGAGGTTGTGTTACGAGTTGG
760	PTCD2_024	ATGAGCTCCACTGCAGATTCC
761	PTCD2_025	CGAGGTTTCTTCTCAGACTCC
762	PTCD2_026	TTCTCAGACTCCACATCATTC
763	PTCD2_027	ATAAATAACATATCCATCAAA

【００７０】

【表２８】

配列番号	名称	配列
764	PTCD2_028	CCTTTGATAAATAACATATCC
765	PTCD2_029	TATTTGCCTTTGATAAATAAC
766	PTCD2_030	ATGGATATGTTATTTATCAAA
767	PTCD2_031	TCAAAGGCAAATATAAAAGTA
768	PTCD2_032	ATCTCTATCAATACTTGCAAA
769	PTCD2_033	GCAGGTGCTTTGCAAGTATTG
770	PTCD2_034	CAAGTATTGATAGAGATGAAA
771	PTCD2_035	GTGAACTTCACATCTTGGTTT
772	PTCD2_036	TAGCAAATTGCAAAAGCAAGA
773	PTCD2_037	CAATTTGCTACAAACTGGTAA
774	PTCD2_038	AAAGACTCAGGGCTATTCTGT
775	PTCD2_039	AGTAGAGCTTCTTCTCTTAAT
776	PTCD2_040	AAAATCTGTACTACATTAAGA
777	PTCD2_041	TCCTTTGAGTAGAGCTTCTTC
778	PTCD2_042	CCTGATTCAGAGCTAATGCCA
779	PTCD2_043	GCTGTGGCATTAGCTCTGAAT
780	PTCD2_044	TTTCTCTTCCTTCTAGAATGA
781	PTCD2_045	TCTTCCTTCTAGAATGAGATG
782	PTCD2_046	AGAAAAAATGGACACAGCTTT
783	PTCD2_047	TGGATTCATGATTTGAGAAAA
784	PTCD2_048	TCAAATCATGAATCCAGAAAG
785	PTCD2_049	ACTGGATATGGATTATAATCT
786	PTCD2_050	CAACATATTTGACTGGATATG
787	PTCD2_051	TCAGGTTTTCCAACATATTTG
788	PTCD2_052	GAGTCTTTATCAGGTTTTCCA
789	PTCD2_053	CTTCTGCAGCATTTTTTAGAG
790	PTCD2_054	ATAAATTTCCTTCTGCAGCAT
791	PTCD2_055	ACAAATTTTGATAAATTTCCT
792	PTCD2_056	TCAAAATTTGTGAAAAGACAT
793	PTCD2_057	TGAAAAGACATGTGTTCTCGG
794	PTCD2_058	TGCAGCACTTGCATACTCACC
795	PTCD2_059	CAGCTGGCCAAAGTGAGGGAA
796	PTCD2_060	GCCACAAGGGCAGGCACATCC

【００７１】

【表２９】

配列番号	名称	配列
797	PTCD2_061	ATGAGATCTATGGGACACTGC
798	PTCD2_062	CTGTCCCTGGGGGTGTGGCAG
799	PTCD2_063	GATGCTGTGCTCTGCCACACC
800	PTCD2_064	ATAGCAACGTGTGAGATTTCC
801	SRP54_001	TTCCAAGGTCTGCTAGAACCA
802	SRP54_002	AATTTCATTTATTTCTTTATT
803	SRP54_003	GCATAGCATTCAATACCTGAA
804	SRP54_004	ATTTATTTCTTTATTTTCAGG
805	SRP54_005	TTTCTTTATTTTCAGGTATTG
806	SRP54_006	TTTATTTTCAGGTATTGAATG
807	SRP54_007	TTTTCAGGTATTGAATGCTAT
808	SRP54_008	AGGTATTGAATGCTATGCTAA
809	SRP54_009	ATATTAACATCTGCTTCCAAC
810	SRP54_010	TTGGAAGCAGATGTTAATATT
811	SRP54_011	TCTTAGTTGCTTCACTAGTTT
812	SRP54_012	TGATGGTGGTTGGTGATTGGG
813	SRP54_013	TTAAGACCAGATGCCATCTCT
814	SRP54_014	TTTTGTTAAGACCAGATGCCA
815	SRP54_015	AATACAGCATGCTGAATCATT
816	SRP54_016	TTTTTAATTTATTTTTGGTAT
817	SRP54_017	ATTTATTTTTGGTATTTAGCT
818	SRP54_018	TTTTTGGTATTTAGCTTGTAG
819	SRP54_019	GTATTTAGCTTGTAGACCCTG
820	SRP54_020	GTGGGTGTCCATGCCTTAACT
821	SRP54_021	GCTTGTAGACCCTGGAGTTAA
822	SRP54_022	CTTTAGTGGGTGTCCATGCCT
823	SRP54_023	TTTTCCTTTAGTGGGTGTCCA
824	SRP54_024	CCACTCCCTTGCAATCCAACA
825	SRP54_025	AACATGTTGTTGTTTTACCAC
826	SRP54_026	TTGGATTGCAAGGGAGTGGTA
827	SRP54_027	CTCTGGTAATAATATGCTAGC
828	SRP54_028	AATCTTTTCTCACCCAGCTAG
829	SRP54_029	TCACCCAGCTAGCATATTATT

【００７２】

【表３０】

配列番号	名称	配列
830	SRP54_030	ATATGTGCAGACACATTCAGA
831	SRP54_031	TTTTCAAGTTTGAGGATTCAT
832	SRP54_032	AAGTTTGAGGATTCATGAACT
833	SRP54_033	AGGATTCATGAACTCTTTATC
834	SRP54_034	GTTGGTCAAAAGCCCCTGGAA
835	SRP54_035	TCTTCCAGGGGCTTTTGACCA
836	SRP54_036	GTAGCATTCTGTTTTAGTTGG
837	SRP54_037	ACCAACTAAAACAGAATGCTA
838	SRP54_038	TGTATAGCTATATAACATGGA
839	SRP54_039	TTAAATCATTTGTCCATGTTA
840	SRP54_040	TCCATGTTATATAGCTATACA
841	SRP54_041	TCTACTCCTTCAGAAGCAATG
842	SRP54_042	AATTTCTCTACTCCTTCAGAA
843	SRP54_043	ATTTTTAAATTTCTCTACTCC
844	SRP54_044	AAAATTTTCATTTTTAAATTT
845	SRP54_045	AAAATGAAAATTTTGAAATTA
846	SRP54_046	TGGCGGCCACTTGTATCAACA
847	SRP54_047	AAATTATTATTGTTGATACAA
848	SRP54_048	TTCAAACAAAGAGTCTTCTTG
849	SRP54_049	TTTGAAGAAATGCTTCAAGTT
850	SRP54_050	AAGAAATGCTTCAAGTTGCTA
851	SRP54_051	TATTTAAACTTTCTAGCAACC
852	SRP54_052	AACTTTCTAGCAACCTGATAA
853	SRP54_053	TAGCAACCTGATAACATTGTT
854	SRP54_054	TGTGATGGATGCCTCCATTGG
855	SRP54_055	AAAGCCTTAGCCTGGGCTTCA
856	SRP54_056	TCTTTAAAAGCCTTAGCCTGG
857	SRP54_057	TCACTATTACTGAGGCTACAT
858	SRP54_058	AAGATAAAGTAGATGTAGCCT
859	SRP54_059	CATGGCCATCAAGTTTTGTCA
860	SRP54_060	TGGCAGCGACTCTGGAAAAAA
861	SRP54_061	TATTTTCTTTTTTTTTCCAGA
862	SRP54_062	TTTTTTTTTCCAGAGTCGCTG

【００７３】

【表３１】

配列番号	名称	配列
863	SRP54_063	CAGAGTCGCTGCCACAAAAAG
864	SRP54_064	ATTGGTACAGGGGAACATATA
865	SRP54_065	AAAGGTTCAAAGTCATCTATA
866	SRP54_066	CTAATAAAAGGCTGTGTTTTG
867	SRP54_067	AACCTTTCAAAACACAGCCTT
868	SRP54_068	AAAACACAGCCTTTTATTAGC
869	SRP54_069	TTTTTTGTATCTTATAGGTAT
870	SRP54_070	TATCTTATAGGTATGGGCGAC
871	SRP54_071	TCTATCAGTCCTTCAATGTCG
872	SRP54_072	AACTTCTCTATAAGTGCTTCA
873	SRP54_073	CATTGTATTTCAGGTCAGTTT
874	SRP54_074	AAATTGCTCATACATGTCTCG
875	SRP54_075	AGGTCAGTTTACGTTGCGAGA
876	SRP54_076	ATGATATTTTGAAATTGCTCA
877	SRP54_077	CGTTGCGAGACATGTATGAGC
878	SRP54_078	AAAATATCATGAAAATGGGCC
879	SRP54_079	TGTTTAAATCTGTTGTAGGGG
880	SRP54_080	AATCTGTTGTAGGGGATGATC
881	SRP54_081	CTCATAAAATCTGTCCCAAAA
882	SRP54_082	CTTTGCTCATAAAATCTGTCC
883	SRP54_083	GGACAGATTTTATGAGCAAAG
884	SRP54_084	GCCTTGCCATTGACTCCTGTT
885	SRP54_085	TGAGCAAAGGAAATGAACAGG
886	SRP54_086	TTTAGCCTTGCCATTGACTCC
887	SRP54_087	GCACCATCCGTACTGTCTAGT
888	SRP54_088	CTAAAAACTTTGGCACCATCC
889	SRP54_089	GATTCTTCCTGGTTGTTTACT
890	SRP54_090	GTAAACAACCAGGAAGAATCC
891	SRP54_091	CCATCTGTGCAAACTTGGTAT
892	SRP54_092	ACACAATATACCAAGTTTGCA
893	SRP54_093	ATACCTCCCATCTTTTTTACC
894	SRP54_094	CACAGATGGTAAAAAAGATGG
895	SRP54_095	AAAAGTCCTTTGATACCTCCC

【００７４】

【表３２】

配列番号	名称	配列
896	SRP54_096	CCCTCAGGTGGCGACATGTCT
897	SRP54_097	CCATCTGTGACTGGCTCACAT
898	SRP54_098	TTGGTTCAATTTTGCCATCTG
899	SRP54_099	GCCATTTGTTGGTTCAATTTT
900	SRP54_100	ACTCTACTTCCCTACTTTTGC
901	SRP54_101	CTCTAGGTGGTATGGCAGGAC
902	SRP54_102	ATGTTGCCAGCAGCACCCTGT
903	SRP54_103	AACAGGGTGCTGCTGGCAACA
904	SRP54_104	CATATTATTGAATCCCATCAT
905	SRP54_105	TTTACATATTATTGAATCCCA
906	SRP54_106	TATTAAGGCATTTTCTTTACA
907	SRP54_107	CTGAGACCTCAGCGTTTCCCT
908	SRP54_108	CCCCCAATTCGCAAAAAGAAG
909	SRP54_109	CCTTCTTTTTGCGAATTGGGG
910	SRP54_110	CGAATTGGGGGGAAAGTGTAT
911	SRP54_111	TTGCTTATCATGCACTCTTTC
912	SRP54_112	CTTTTCTTCTCGCCCGCTTTT
913	SRP54_113	TTCTCGCCCGCTTTTCCCCTC
914	SRP54_114	CCCTCCTTTTCTTTTTCCTTC
915	SRP54_115	TCCCTTATATTAAAGGGAGGA
916	SRP54_116	TTTTTCCTTCCTTCTTTCCTC
917	SRP54_117	CTTCCTTCTTTCCTCCCTTTA
918	SRP54_118	CTCCCTTTAATATAAGGGAGA
919	SRP54_119	CACAAAAACCATGTATTTCTC
920	SRP54_120	ATATAAGGGAGAAATACATGG
921	SRP54_121	TGGAAATCATTATATGTTTGC
922	SRP54_122	CTTTAGATTTTCTTCTGTTTT
923	SRP54_123	ACTTAAGTGTTATGATGGTGA
924	SRP54_124	GATTTTCTTCTGTTTTCACCA
925	SRP54_125	TTCTGTTTTCACCATCATAAC
926	SRP54_126	CATCATGATTTAACTTAAGTG
927	SRP54_127	ACCATCATAACACTTAAGTTA
928	SRP54_128	AGTACTAAAATTTTACATCAT

【００７５】

【表３３】

配列番号	名称	配列
929	SRP54_129	GTACTTAAAGGTTTTTAATTA
930	SRP54_130	CAAATGCAATGCTTGGCCTTC
931	SRP54_131	ATTATCTCGAAGGCCAAGCAT
932	SRP54_132	ACTACTGACCAGGACTGTTTA
933	SRP54_133	ATTGAAACATTATTTAACTAC
934	SRP54_134	TAAACAGTCCTGGTCAGTAGT
935	SRP54_135	CAGCACTTTAATTGAAACATT
936	SRP54_136	TTTTACAGCACTTTAATTGAA
937	SRP54_137	AAGTTTATTTTACAGCACTTT
938	SRP54_138	AATTAAAGTGCTGTAAAATAA
939	SRP54_139	AGGATAACTAACCAAGATCTG
940	ERAP2_001	TGTGTGAATTAACCATTGCAG
941	ERAP2_002	ATGTTCCATTCTTCTGCAATG
942	ERAP2_003	ACATTCACAGAGGATTTTACT
943	ERAP2_004	GGGCAAGATGGCTGTTAAGCA
944	ERAP2_005	CTGCTTAACAGCCATCTTGCC
945	ERAP2_006	TTCTCAGTTCTCAGTGCCATC
946	ERAP2_007	CCAGTAGCCACTAATGGGGAA
947	ERAP2_008	CTTGGCAGGAGCTAAGGCTCC
948	ERAP2_009	TCCACCCCAATCTCACCTCTC
949	ERAP2_010	TTGCATCTGAGAAGATCGAAG
950	ERAP2_011	CTGTGCAAGATGATAAACTGG
951	ERAP2_012	AAGATCTTTGCTGTGCAAGAT
952	ERAP2_013	TCATCTTGCACAGCAAAGATC
953	ERAP2_014	ATGTATCTTGAATCTTCCTCT
954	ERAP2_015	CTGGTTTCATGTATCTTGAAT
955	ERAP2_016	AGTTCTTTTCCTGGTTTCATG
956	ERAP2_017	TTCATGAGCAGGGTAACTCAA
957	ERAP2_018	AGTTACCCTGCTCATGAACAA
958	ERAP2_019	TCTGGAACCAGCAGTGCAATT
959	ERAP2_020	AGGTGAGGCGTAAGTTTCTCT
960	ERAP2_021	TAAAACCCTTCAAAGCCATCA
961	ERAP2_022	AAGGGTTTTATAAAAGCACAT

【００７６】

【表３４】

配列番号	名称	配列
962	ERAP2_023	ACCACCAAGAGTTCTGTATGT
963	ERAP2_024	TAAAAGCACATACAGAACTCT
964	ERAP2_025	GCTGGGGGTGGGTCTTTTCAC
965	ERAP2_026	ACAGAATTCTTGCAGTAACAG
966	ERAP2_027	AGCCAACCCAGGCACGCATGG
967	ERAP2_028	AACAACGGTTCATCAAAGCAA
968	ERAP2_029	CCTTGCTTTGATGAACCGTTG
969	ERAP2_030	ATGAACCGTTGTTCAAAGCCA
970	ERAP2_031	AATCAAGATACGAAGAGAGAG
971	ERAP2_032	GCATGTTGGATAGTGCAATAT
972	ERAP2_033	CTTTCTGTAGGTTAAGACAAT
973	ERAP2_034	TGTAGGTTAAGACAATTGAAC
974	ERAP2_035	AAAGTGATCTTCCAAAAGACC
975	ERAP2_036	CAGTAGTTTCAAAGTGATCTT
976	ERAP2_037	GAAGATCACTTTGAAACTACT
977	ERAP2_038	AAACTACTGTAAAAATGAGTA
978	ERAP2_039	TGATTTCCACTCTCTGAGTGG
979	ERAP2_040	CACTCTCTGAGTGGCTTCACT
980	ERAP2_041	TCTGGGGATGCATAGATGGAC
981	ERAP2_042	ATTCCGTTTGTCTGGGGATGC
982	ERAP2_043	CCAGGTGTCCATCTATGCATC
983	ERAP2_044	ATAAAAATCAAGTAGCTTCAG
984	ERAP2_045	CAGGCATCACTGAAGCTACTT
985	ERAP2_046	GAGAGTGGATAGTAGATATCA
986	ERAP2_047	TGAAAAGTACTTTGATATCTA
987	ERAP2_048	ATATCTACTATCCACTCTCCA
988	ERAP2_049	TTAGATTTAATTGCTATTCCT
989	ERAP2_050	CATGGCTCCAGGTGCAAAGTC
990	ERAP2_051	ATTGCTATTCCTGACTTTGCA
991	ERAP2_052	CACCTGGAGCCATGGAAAATT
992	ERAP2_053	TCGGAAGCAGAAGAGGTCTTG
993	ERAP2_054	ACCCCAAGACCTCTTCTGCTT
994	ERAP2_055	CCTCCTAGTGGTTTGGCAACC

【００７７】

【表３５】

配列番号	名称	配列
995	ERAP2_056	GCAACCTGGTCACAATGGAAT
996	ERAP2_057	CAAAACCCTCCTTAAGCCAAA
997	ERAP2_058	GCTTAAGGAGGGTTTTGCAAA
998	ERAP2_059	CAAAATACATGGAACTTATCG
999	ERAP2_060	TCCCTGTTTAGGATGACTATT
1000	ERAP2_061	GGATGACTATTTTTTGAATGT
1001	ERAP2_062	TAATTACTTCAAAACACACAT
1002	ERAP2_063	AATGTGTGTTTTGAAGTAATT
1003	ERAP2_064	AAGTAATTACAAAAGATTCAT
1004	ERAP2_065	GAGATAGGGCGGGATGAATTC
1005	ERAP2_066	CGCTGGTTTGGAGATAGGGCG
1006	ERAP2_067	AGTCGGGGTTTCCGCTGGTTT
1007	ERAP2_068	CTGTATTTGAGTCGGGGTTTC
1008	ERAP2_069	AAAAAAAACAAAAGAGTTGAA
1009	ERAP2_070	AACTCTTTTGTTTTTTTTTAA
1010	ERAP2_071	TTTTTTTTTAAAGGGAGCTTG
1011	ERAP2_072	AAGGGAGCTTGTATTTTGAAT
1012	ERAP2_073	TCCTCACCCAGAAAATCCTTG
1013	ERAP2_074	AATATGCTCAAGGATTTTCTG
1014	ERAP2_075	TGGAATTTCTCCTCACCCAGA
1015	ERAP2_076	TGGGTGAGGAGAAATTCCAGA
1016	ERAP2_077	AGTACTGAATTATTCCTTTCT
1017	ERAP2_078	TATAGCTGAACTTCTTTAAGT
1018	ERAP2_079	ACAGACTGCTCCACAAGTCAT
1019	ERAP2_080	TAAACAACTCTACAAAACAAG
1020	ERAP2_081	TTCTTGTTTTGTAGAGTTGTT
1021	ERAP2_082	TAGAGTTGTTTAGAAAGTGAT
1022	ERAP2_083	GAAAGTGATTTTACATCTGGT
1023	ERAP2_084	CATCTGGTGGAGTTTGTCATT
1024	ERAP2_085	TCATTCGGATCCCAAGATGAC
1025	ERAP2_086	CCCCAGAAAGGCGAGCTGAAA
1026	ERAP2_087	ACCTCTGCATTTTCCCCCAGA
1027	ERAP2_088	AGCTCGCCTTTCTGGGGGAAA

【００７８】

【表３６】

配列番号	名称	配列
1028	ERAP2_089	TGGGGGAAAATGCAGAGGTCA
1029	ERAP2_090	TGGAGAGTCCATGTAGTCATC
1030	ERAP2_091	ACCACCAGCAGGGGGATTCCT
1031	ERAP2_092	CAGGAAGACCCTGAATGGAGG
1032	ERAP2_093	CTCTCTGTCATAGGTACCTGT
1033	ERAP2_094	GAATGTGTCTGTGGATCACAT
1034	ERAP2_095	ATTTTAGAATGTGTCTGTGGA
1035	ERAP2_096	AGGTAGATCCAGAGTATCTAA
1036	ERAP2_097	ACCCAACTGGTCTTTTCAGGT
1037	ERAP2_098	AGTCCACATTAAATTTCACCC
1038	ERAP2_099	ATGTGGACTCAAATGGTTACT
1039	ERAP2_100	TCTAGGGTCAGTCTCCCTGCA
1040	ERAP2_101	TTTTATACTTCAGTGCAGGGA
1041	ERAP2_102	TACTTCAGTGCAGGGAGACTG
1042	ERAP2_103	ATGTTGGAGGTAGTAAGTCAT
1043	ERAP2_104	AGAGATATCTGAAATATTCCT
1044	ERAP2_105	CCACATGATGGACAGAAGGAA
1045	ERAP2_106	AGATATCTCTGAAAACCTCAA
1046	ERAP2_107	TGCAGCGTTACCTTCTTCAGT
1047	ERAP2_108	CCTGTCAATCACTGGCTTAAA
1048	ERAP2_109	AGCCAGTGATTGACAGGCAAA
1049	ERAP2_110	TGGATGCAAGGAGCATGGTTC
1050	ERAP2_111	CACTGGATTCCATCCACTGGG
1051	ERAP2_112	ATTTTCCACTGGATTCCATCC
1052	ERAP2_113	TTCATTTTTATGCTTGATATT
1053	ERAP2_114	AAACATCTGTTGGTATACTGT
1054	ERAP2_115	TGCTTGATATTACAGTATACC
1055	ERAP2_116	AAGATTGTGTATTCTGTGGGT
1056	ERAP2_117	TTCAGCACTTGACATTGACAG
1057	ERAP2_118	GAGCAATATGAACTGTCAATG
1058	ERAP2_119	TTTTGTTCAGCACTTGACATT
1059	ERAP2_120	CTGATGCTTGCTCGTTGACAA
1060	ERAP2_121	TCAACGAGCAAGCATCAGGAA

【００７９】

【表３７】

配列番号	名称	配列
1061	ERAP2_122	GAAACAAATTATTTTTCTTTC
1062	ERAP2_123	CTTCCATTCCTAGTTCAATTA
1063	ERAP2_124	TTTCTTCAGGTTAATTGAACT
1064	ERAP2_125	TTCAGGTTAATTGAACTAGGA
1065	ERAP2_126	GACGTCTGGCAATCGCATGAA
1066	ERAP2_127	TCTTACAAAATCCCATGCTAG
1067	ERAP2_128	AGAAGATGGGTCCAATTTTCT
1068	ERAP2_129	TAAGAGAAAATTGGACCCATC
1069	ERAP2_130	TATGGTGTTTCTTTTTATTTT
1070	ERAP2_131	TTTTTATTTTCAGATTTGACT
1071	ERAP2_132	TTTTCAGATTTGACTTGGGCT
1072	ERAP2_133	AGATTTGACTTGGGCTCATAT
1073	ERAP2_134	ACTTGGGCTCATATGACATAA
1074	ERAP2_135	TTCCAAGGATAAGTTGCAAGA
1075	ERAP2_136	ACCTGTAAAATATTGAAGAAA
1076	ERAP2_137	TTCAATATTTTACAGGTGAAA
1077	ERAP2_138	CAGGTGAAACTATTTTTTGAA
1078	ERAP2_139	AATCTCTTGAGGCTCAAGGAT
1079	ERAP2_140	AAAAATATCCAGATGTGATCC
1080	ERAP2_141	CAGAACAGTTTGAAAAATATC
1081	ERAP2_142	GTTATCGTTTCCAGAACAGTT
1082	ERAP2_143	TATTTTTGGTTATCGTTTCCA
1083	ERAP2_144	AAACTGTTCTGGAAACGATAA
1084	ERAP2_145	AGTATTAACCATTAGCCAAGT
1085	ERAP2_146	TATTGACCATTTAAGTATTAA
1086	ERAP2_147	GGAGGCTGAGAAGGGCGGATC
1087	ERAP2_148	GCGGAGACGGGGTCTCACCGT
1088	ERAP2_149	TATTTTTAGCGGAGACGGGGT
1089	ERAP2_150	CTGCTGCAGCCTGCCGAGTAG
1090	ERAP2_151	TGCCATTTTCCTGCTGCAGCC
1091	ERAP2_152	AGACAGAGTCTCGCTCAGTCA
1092	ERAP2_153	ACTTCATGCAGGCAGTCATGT
1093	ERAP2_154	TTGAGACTTCTTGTTGGTTAG

【００８０】

【表３８】

配列番号	名称	配列
1094	ERAP2_155	TCTAACCAACAAGAAGTCTCA
1095	ERAP2_156	GCTGGATACGATAGCTGAGAG
1096	ERAP2_157	AATAGGATACTGAACTGGCCT
1097	ERAP2_158	CTTTTAAATAGGATACTGAAC
1098	ERAP2_159	AAAGTAAACTTCCTGAATAAT
1099	ERAP2_160	GCCTCAAGTGACTTTCTCCAT
1100	ERAP2_161	TCCATTGCTTCACGCTATGCC
1101	ERAP2_162	CTTCTTTAATTTTTTTAACCT
1102	ERAP2_163	ATTTTTTTAACCTTGCTTAGT
1103	ERAP2_164	ACCTTGCTTAGTATTCTATAG
1104	ERAP2_165	CTTGGACGTAAAACTGGTTGG
1105	ERAP2_166	CCCAACCAGTTTTACGTCCAA
1106	ERAP2_167	TGCATTGGCTAATTTTCCTTG
1107	ERAP2_168	TATATTTTATGCATTGGCTAA
1108	ERAP2_169	CGTCCAAGGAAAATTAGCCAA
1109	ERAP2_170	ATAGTTTGTATATTTTATGCA
1110	ERAP2_171	CTGATCCTTGCCTTTCATAGT
1111	ERAP2_172	GTGGCAAAGTCTCTGGTTTCC
1112	ERAP2_173	TAATAATCTGAGATTTGGTGG
1113	ERAP2_174	CCACCAAATCTCAGATTATTA
1114	ERAP2_175	TCAAGAAGGCCAGGAAGGCCT
1115	ERAP2_176	GGTTAAGCCTTACATTCATGA
1116	ERAP2_177	GAATGCTCTCAAAAATCTACC
1117	ERAP2_178	ACCAGAGACCATTCATTTGGA
1118	ERAP2_179	AGAGCATTCCAAATGAATGGT
1119	ERAP2_180	ACCATTCATTCATTTGACCAG
1120	ERAP2_181	TTCATTTGACCATTCATTCAT
1121	ERAP2_182	TATCTCTGTGAGGGCAGATTT
1122	ERAP2_183	CTTTTGTATCTCTGTGAGGGC
1123	ERAP2_184	GTTTAAGCCTTACATTCATGA
1124	ERAP2_185	AGCCTTACATTCATGAAGTAC
1125	ERAP2_186	GAATGATCTCAAAAATCTACC
1126	ERAP2_187	AGATCATTCCAAATGAAGTCG

【００８１】

【表３９】

配列番号	名称	配列
1127	ERAP2_188	TTGTGTCTCTGTGAGGGCAGA
1128	ERAP2_189	TTAAAAATGCAATAGTGTATG
1129	ERAP2_190	AAAAGATTTATTAAAAATGCA
1130	ERAP2_191	ATAAATCTTTTGAAATTTGCA
1131	ERAP2_192	ACCGAAAATACACAATACAAT
1132	ERAP2_193	AAATTTGCAGAATTAGATTGT
1133	ERAP2_194	CAGAATTAGATTGTATTGTGT
1134	ERAP2_195	CATTCAATTATCATTTAACCG
1135	ERAP2_196	GGTTAAATGATAATTGAATGT
1136	ERAP2_197	GATGCAGCACCATATTTTATA
1137	ERAP2_198	CTTAAAATATGAAGAAATGCT
1138	ERAP2_199	TAACCCAGCTTTAGCATTTCT
1139	ERAP2_200	GCATTTCTTCATATTTTAAGG
1140	ERAP2_201	TTCATATTTTAAGGAAACCCC
1141	ERAP2_202	AGGAAACCCCCCACCTCCTTC
1142	ERAP2_203	AGAGAGCAAGAAGCGCCCTTA
1143	ERAP2_204	GCAGGGCATTTCAGAGAGCAA
1144	ERAP2_205	AGGGCGCTTCTTGCTCTCTGA
1145	ERAP2_206	TTCCAAACTACCTTATTCAAA
1146	ERAP2_207	TTTATTCCAAACTACCTTATT
1147	ERAP2_208	TTTCTTTATTCCAAACTACCT
1148	ERAP2_209	AATAAGGTAGTTTGGAATAAA
1149	ERAP2_210	CTATCTGTATGTAGAGTGATC
1150	ERAP2_211	GAATAAAGAAAGAAAAGATCA
1151	ERAP2_212	TACTGTCTCATATATAGGATC
1152	ERAP2_213	TGATCCTATATATGAGACAGT
1153	ERAP2_214	TAAAACTTATCTGTATTTTTA
1154	ERAP2_215	AGTCTTTCTAAAACTTATCTG
1155	ERAP2_216	CATATTGTTTTGAGTCTTTCT
1156	ERAP2_217	GAAAGACTCAAAACAATATGT
1157	ERAP2_218	CATTATTAAGGAAGACTTGGG
1158	ERAP2_219	CCCTCTTGACCCAACATCCCA
1159	ERAP2_220	GAGCAATATCATGAAGGTCAA

【００８２】

【表４０】

配列番号	名称	配列
1160	ERAP2_221	TTTGATGCCACAGTCAGAGAT
1161	ERAP2_222	ATGCCACAGTCAGAGATAGAA
1162	ERAP2_223	GGTGGCCATGGATGTGCCCCA
1163	ERAP2_224	ACCAAAAAAATGTGTACTGTAT
1164	ERAP2_225	GTTAAATTTGTTTTCAGATCA
1165	ERAP2_226	TTTTCAGATCATTTCATGGAA
1166	ERAP2_227	AGATCATTTCATGGAATCTTT
1167	ERAP2_228	ATGGAATCTTTGAAGTATCTT
1168	ERAP2_229	AAGTATCTTTGACTCTAACTT
1169	ERAP2_230	ACTCTAACTTTGACTTGGTGG
1170	ERAP2_231	ACTTGGTGGTGGACCTTCCTT
1171	ERAP2_232	TAACACCTAAGAGATATCCTT
1172	ERAP2_233	CTTATGCTAAAATACATGTAA
1173	ERAP2_234	AATTTCCTTATGCTAAAATAC
1174	ERAP2_235	CTTTTTCAATTTCCTTATGCT
1175	ERAP2_236	GAATTACATGTATTTTAGCAT
1176	ERAP2_237	GCATAAGGAAATTGAAAAAGT
1177	ERAP2_238	CATATGGTCTTGTTGAAAAAA
1178	ERAP2_239	ATTTACATATGGTCTTGTTGA
1179	ERAP2_240	ACTATTTAATTTACATATGGT
1180	ERAP2_241	AACAAGACCATATGTAAATTA
1181	ERAP2_242	TGGAAACATTGTTGATGGTAC
1182	ERAP2_243	AGTAGAACTGTACCATCAACA
1183	ERAP2_244	CATAAATATGCAGAGTTCTTT
1184	ERAP2_245	ACAATATTGTAAATAACAATA
1185	ERAP2_246	TTTTGTATTGTTATTTACAAT
1186	ERAP2_247	TATTGTTATTTACAATATTGT
1187	ERAP2_248	CAATATTGTTAAATTGAATGC
1188	ERAP2_249	GAATCCTAGAAATTGCAAATG
1189	ERAP2_250	TGTACTCAATTCTTTAGAATC
1190	ERAP2_251	CAATTTCTAGGATTCTAAAGA
1191	ERAP2_252	TAGGATTCTAAAGAATTGAGT
1192	ERAP2_253	TTATTTGATGATAATATGAGA

【００８３】

【表４１】

配列番号	名称	配列
1193	ERAP2_254	ATGATAATATGAGAATTACTG
1194	ERAP2_255	TCAAAACAGTATTGGCACAGT
1195	ERAP2_256	TTTATCAAAACAGTATTGGCA
1196	ERAP2_257	AAAATCTATTTATTTATCAAA
1197	ERAP2_258	TTTTTAAAAATCTATTTATTT
1198	ERAP2_259	ATAAATAAATAGATTTTTAAA
1199	ERAP2_260	AAAATAAATGTATTGTACTTA
1200	ERAP2_261	TCCTTACCATGTTACTTGTCA
1201	STAT1_001	CCTATAGGATGTCTCAGTGGT
1202	STAT1_002	AGTCAAGCTGCTGAAGTTCGT
1203	STAT1_003	CATGGGAAAACTGTCATCATA
1204	STAT1_004	TGATGACAGTTTTCCCATGGA
1205	STAT1_005	TAACCACTGTGCCAGGTACTG
1206	STAT1_006	CCATGGAAATCAGACAGTACC
1207	STAT1_007	ATTTGCCACCATCCGTTTTCA
1208	STAT1_008	CCACCATCCGTTTTCATGACC
1209	STAT1_009	ATGACCTCCTGTCACAGCTGG
1210	STAT1_010	CTTATGTTATGCTGTAGCAAG
1211	STAT1_011	TTTGGAGAATAACTTCTTGCT
1212	STAT1_012	GAGAATAACTTCTTGCTACAG
1213	STAT1_013	TTCTAACCACTCAAATCTAGG
1214	STAT1_014	AGGAAGACCCAATCCAGATGT
1215	STAT1_015	TTCCTTCAGACAGCTGTAAAT
1216	STAT1_016	CTTTCTTCCTTCAGACAGCTG
1217	STAT1_017	CAGAATTTTCCTTTCTTCCTT
1218	STAT1_018	CAGCTGTCTGAAGGAAGAAAG
1219	STAT1_019	TCTAACATCACTGTGCTCTGA
1220	STAT1_020	TGTTTGTCTAACATCACTGTG
1221	STAT1_021	CTGTCAAGCTCTTTCTGTTTG
1222	STAT1_022	TGACTTTACTGTCAAGCTCTT
1223	STAT1_023	ATGCTCTATACACTACAAACA
1224	STAT1_024	CATCTTTGTTTGTAGTGTATA
1225	STAT1_025	TTTGTAGTGTATAGAGCATGA

【００８４】

【表４２】

配列番号	名称	配列
1226	STAT1_026	TAGTGTATAGAGCATGAAATC
1227	STAT1_027	AAGTCATATTCATCTTGTAAA
1228	STAT1_028	CATTTGAAGTCATATTCATCT
1229	STAT1_029	CAAGATGAATATGACTTCAAA
1230	STAT1_030	CTGGCTGTCTCTCAATTTATA
1231	STAT1_031	CCACACCATTGGTCTCGTGTT
1232	STAT1_032	TGATCACTCTTTGCCACACCA
1233	STAT1_033	TAGAACACGAGACCAATGGTG
1234	STAT1_034	TCTTATTGTCAAGCATTAAAT
1235	STAT1_035	ATGCTTGACAATAAGAGAAAG
1236	STAT1_036	TGAACTACTTCCTAAAGGCAA
1237	STAT1_037	ACTTTGTTTCTTCTATTGCCT
1238	STAT1_038	TTTCTTCTATTGCCTTTAGGA
1239	STAT1_039	TTCTATTGCCTTTAGGAAGTA
1240	STAT1_040	GGAAGTAGTTCACAAAATAAT
1241	STAT1_041	AGCTGCTGCCGAACTTGCTGC
1242	STAT1_042	TGTTCCAATTCCTCCAACTTT
1243	STAT1_043	TGATAGGGTCATGTTCGTAGG
1244	STAT1_044	TTTTTTGTGATAGGGTCATGT
1245	STAT1_045	CACCACAAACGAGCTGCAAAT
1246	STAT1_046	CTGGGTATTTGCAGCTCGTTT
1247	STAT1_047	CAGCTCGTTTGTGGTGGAAAG
1248	STAT1_048	TGGTGGAAAGACAGCCCTGCA
1249	STAT1_049	ACCAACAGTCTGGAAAGAAAA
1250	STAT1_050	TTTTTCTTTCCAGACTGTTGG
1251	STAT1_051	TTTCCAGACTGTTGGTGAAAT
1252	STAT1_052	CAGACTGTTGGTGAAATTGCA
1253	STAT1_053	AAATTATAATTCAGCTCTTGC
1254	STAT1_054	ACTTTCAAATTATAATTCAGC
1255	STAT1_055	AAAGTCAAAGTCTTATTTGAT
1256	STAT1_056	TCTCATTCACATCTCTGCAAA
1257	STAT1_057	CTGTATTTCTCTCATTCACAT
1258	STAT1_058	CAGAGATGTGAATGAGAGAAA

【００８５】

【表４３】

配列番号	名称	配列
1259	STAT1_059	AGCATTTCTTTCCTATATTGT
1260	STAT1_060	TTTCCTATATTGTATAGATTT
1261	STAT1_061	CTATATTGTATAGATTTAGGA
1262	STAT1_062	TGTGCGTGCCCAAAATGTTGA
1263	STAT1_063	GGAAGTTCAACATTTTGGGCA
1264	STAT1_064	GGCACGCACACAAAAGTGATG
1265	STAT1_065	AATTGCTATAAAACAAATAAT
1266	STAT1_066	CTAAGATGATTATTTGTTTTA
1267	STAT1_067	TGTTCTTTCAATTGCTATAAA
1268	STAT1_068	TTTTATAGCAATTGAAAGAAC
1269	STAT1_069	TAGCAATTGAAAGAACAGAAA
1270	STAT1_070	TTCTTTCCTTTTCTCTTCCAA
1271	STAT1_071	CTTTTCTCTTCCAAGGGTCCT
1272	STAT1_072	TCTTCCAAGGGTCCTCTCATC
1273	STAT1_073	AAAACTAAGGGAGTGAAGCTC
1274	STAT1_074	AAACCCAATTGTGCCAGCCTG
1275	STAT1_075	AAGGTCTTTGTCATCCTTTAG
1276	STAT1_076	TCATCCTTTAGACGACCTCTC
1277	STAT1_077	GACGACCTCTCTGCCCGTTGT
1278	STAT1_078	GTACAACATGCTGGTGGCGGA
1279	STAT1_079	GGTGTTTTCTCTCTAGAATCT
1280	STAT1_080	TCTCTAGAATCTGTCCTTCTT
1281	STAT1_081	GTGACAGAAGAAAACTGCCAA
1282	STAT1_082	AGAAGTGCTGAGTTGGCAGTT
1283	STAT1_083	TTCTGTCACCAAAAGAGGTCT
1284	STAT1_084	TTTGTTTAGGTCCTAACGCCA
1285	STAT1_085	TTTAGGTCCTAACGCCAGCCC
1286	STAT1_086	GGTCCTAACGCCAGCCCCGAT
1287	STAT1_087	CTGAAAGTATACAAATGCAGA
1288	STAT1_088	TATTTTCCTGAAAGTATACAA
1289	STAT1_089	TCATTTATATTTTCCTGAAAG
1290	STAT1_090	TATACTTTCAGGAAAATATAA
1291	STAT1_091	AGGAAAATATAAATGATAAAA

【００８６】

【表４４】

配列番号	名称	配列
1292	STAT1_092	AATCCAAAGCCAGAAGGGAAA
1293	STAT1_093	ATGAGTTCTAGGATGCTTTCA
1294	STAT1_094	CCTTCTGGCTTTGGATTGAAA
1295	STAT1_095	GATTGAAAGCATCCTAGAACT
1296	STAT1_096	CTTAGCTTTTCTCCTTTTTAG
1297	STAT1_097	TCCTTTTTAGAACCTGACTTC
1298	STAT1_098	TTCGTGTAGGGTTCAACCGCA
1299	STAT1_099	GAACCTGACTTCCATGCGGTT
1300	STAT1_100	TAATTGCGAATGATGTCAGGG
1301	STAT1_101	TGCTGTTACTTTCCCTGACAT
1302	STAT1_102	CCTGACATCATTCGCAATTAC
1303	STAT1_103	GATACAGATACTTCAGGGGAT
1304	STAT1_104	TCAATATTTGGATACAGATAC
1305	STAT1_105	CAAAGGCATGGTCTTTGTCAA
1306	STAT1_106	GCCTGGAGTAATACTTTCCAA
1307	STAT1_107	GAAAGTATTACTCCAGGCCAA
1308	STAT1_108	GGGCCATCAAGTTCCATTGGC
1309	STAT1_109	TTTCTAGCACCAGAGCCAATG
1310	STAT1_110	TAGCACCAGAGCCAATGGAAC
1311	STAT1_111	TTTTTCCCCATTTTAGTCACC
1312	STAT1_112	CCCATTTTAGTCACCCTTCTA
1313	STAT1_113	GTCACCCTTCTAGACTTCAGA
1314	STAT1_114	ACGAGGTGTCTCGGATAGTGG
1315	STAT1_115	TCTTTTTACAGATGAACACAG
1316	TWF1_001	ACATCTTCACTTGCTGTGGAA
1317	TWF1_002	CTTTCTTTATCTTTTTCCACA
1318	TWF1_003	TTTATCTTTTTCCACAGCAAG
1319	TWF1_004	TCTTTTTCCACAGCAAGTGAA
1320	TWF1_005	CACAGCAAGTGAAGATGTTAA
1321	TWF1_006	TGGCTCTGGCAAAGATCTCTT
1322	TWF1_007	CATTTCTGGCTCTGGCAAAGA
1323	TWF1_008	AGAAGTCTGTACTTTCCATTT
1324	TWF1_009	CCAGAGCCAGAAATGGAAAGT

【００８７】

【表４５】

配列番号	名称	配列
1325	TWF1_010	AATAGATATTTTCAGAAGTCT
1326	TWF1_011	TAAAAATAATTTTTCATAGAG
1327	TWF1_012	ATAGAGCAACTTGTGATTGGA
1328	TWF1_013	TCCTCCAACAGGGGTAAAACA
1329	TWF1_014	TTTTACCCCTGTTGGAGGACA
1330	TWF1_015	CCCCTGTTGGAGGACAAACAA
1331	TWF1_016	ACGAACCTATTCAGTTGTGAA
1332	TWF1_017	ACAACTGAATAGGTTCGTCAA
1333	TWF1_018	ATGTGGCCACCTCCAAATTCC
1334	TWF1_019	CTGTTCCAAATACTTCATCTT
1335	TWF1_020	GAGGTGGCCACATTAAAGATG
1336	TWF1_021	TATCCATGTAATGATACATCT
1337	TWF1_022	ATCTGTCGTAGTTCTTCCTCA
1338	TWF1_023	ATGCTTAGTGTCCACACCCAC
1339	TWF1_024	CAAAGCCTGAAAGGCTTCTCG
1340	TWF1_025	CCATTTCTCGAGAAGCCTTTC
1341	TWF1_026	TCGAGAAGCCTTTCAGGCTTT
1342	TWF1_027	AGGCTTTGGAAAAATTGAATA
1343	TWF1_028	GAAAAATTGAATAATAGACAG
1344	TWF1_029	CTGCCAATAAGAAACAAAATA
1345	TWF1_030	TATCTATTTCCTGCCAATAAG
1346	TWF1_031	ATTTTTTATATCTATTTCCTG
1347	TWF1_032	TTTCTTATTGGCAGGAAATAG
1348	TWF1_033	TTATTGGCAGGAAATAGATAT
1349	TWF1_034	TTGTGTTGGCCAAAATTATAA
1350	TWF1_035	AGTTCTGTATTTGTTGTGTTG
1351	TWF1_036	GCAAATCTTTCAGTTCTGTAT
1352	TWF1_037	GCCAACACAACAAATACAGAA
1353	TWF1_038	CCAAAGAGGATTCCCAAGGAT
1354	TWF1_039	TACAGAAAGAAATGGTAACGA
1355	TWF1_040	TTTCTGTATAAACATTCCCAT
1356	TWF1_041	TGTATAAACATTCCCATGAAG
1357	TWF1_042	TTATTATTTGAACTTACAGTT

【００８８】

【表４６】

配列番号	名称	配列
1358	TWF1_043	AACTTACAGTTTTTATTTATT
1359	TWF1_044	TTTATTCAATGCCTGGATACA
1360	TWF1_045	TTCAATGCCTGGATACACATG
1361	TWF1_046	TAGCAGACGGCTCTTGCAGCT
1362	TWF1_047	TACAATTTCTAGCAGACGGCT
1363	TWF1_048	TAGTTGTCTTTCTACAATTTC
1364	TWF1_049	TAATTACATCCATTTGTAGTT
1365	TWF1_050	TCTTTTACAGATCGAGATAGA
1366	TWF1_051	CAGATCGAGATAGACAATGGG
1367	TWF1_052	CTTGTGTGCATGCTGCTTGGG
1368	TWF1_053	TGAAGAAGTACATCCCAAGCA
1369	TWF1_054	CAAAACTTTGCTTGTGTGCAT
1370	TWF1_055	GTTTTGCAAAACTTTGCTTGT
1371	TWF1_056	CTGCAGGACCTTTTGGTTTTG
1372	TWF1_057	CAAAACCAAAAGGTCCTGCAG
1373	TWF1_058	CGCTGGGCCCCTAATTAGTCT
1374	TWF1_059	ATCAGTAGTAGCTTCAGTTTC
1375	TWF1_060	ATGTGATGACTTTAATCAGTA
1376	TWF1_061	AAAAACTAGTATTACAATGTT
1377	TWF1_062	AGTTCTCCTGTACTAAAAGCT
1378	TWF1_063	AAAGTCCAGCTTTTAGTACAG
1379	TWF1_064	TATCAACATGGAATGATTTCA
1380	TWF1_065	GTACAGGAGAACTGAAATCAT
1381	TWF1_066	CCTACTTTATATCAACATGGA
1382	TWF1_067	CAAAAAGTACAATTTTTTTCC
1383	TWF1_068	AAAACACACAGAAGTGAAAAG
1384	TWF1_069	GAAAATAGCACTTTTCACTTC
1385	TWF1_070	ACTTCTGTGTGTTTTTAAAAT
1386	TWF1_071	AAATTAATGTTATAGAAGACT
1387	TWF1_072	ACTCAAAAATAGAAATCATGA
1388	TWF1_073	TAGCTTTAACTCAAAAATAGA
1389	TWF1_074	TATTTTTGAGTTAAAGCTAGA
1390	TWF1_075	AGTTAAAGCTAGAAAAGGGTT

【００８９】

【表４７】

配列番号	名称	配列
1391	TWF1_076	ATTTTGTCACACTGTTTTCAT
1392	TWF1_077	AAGTGTGGAATCAACGCTATG
1393	TWF1_078	TCACACTGTTTTCATAGCGTT
1394	TWF1_079	AGAAGTATTTGAAGTGTGGAA
1395	TWF1_080	ATAGCGTTGATTCCACACTTC
1396	TWF1_081	TAGAACTGGCCCAACTGTATA
1397	TWF1_082	AGACATCAGACTTTCTAGAAC
1398	TWF1_083	TACAGTTGGGCCAGTTCTAGA
1399	TWF1_084	CCCTTTGAGACATCAGACTTT
1400	TWF1_085	TGTCCCACAAGAAAGTAGTAA
1401	TWF1_086	AGGTCTTTCTGTCCCACAAGA
1402	TWF1_087	TTGTGGGACAGAAAGACCTTA
1403	TWF1_088	CAGCTTAGAAAATACTCTAGC
1404	TWF1_089	CAAGGCACACTAAGTTTCCAG
1405	TWF1_090	TAAGCTGGAAACTTAGTGTGC
1406	TWF1_091	TAAAAGTTGCAGACATGATCC
1407	TWF1_092	GAAATAGTGCTTTATATTGCA
1408	TWF1_093	TATTGCAGCAGTCTTTTATAT
1409	TWF1_094	ATGCTATTAAAAAAAAGTCAA
1410	TWF1_095	TATTTGACTTTTTTTTAATAG
1411	TWF1_096	ACTTTTTTTTAATAGCATTAA
1412	TWF1_097	AGAGTGAGCTGATCTGCAATT
1413	TWF1_098	ATAGCATTAAAATTGCAGATC
1414	TWF1_099	AGGGTACCAGATATTTTCTAT
1415	TWF1_100	AATGTCATCAGAAATCCTGCA
1416	TWF1_101	AAATAGGTGGGCTACCTTTCT
1417	ERAP1_001	AGGGGCAGAAACACCATCTTC
1418	ERAP1_002	TGCCCCTCAAATGGTCCCTTG
1419	ERAP1_003	TACTTTCCTCACTGTTGGCTC
1420	ERAP1_004	CTCACTGTTGGCTCTCTTAAC
1421	ERAP1_005	GAGATGCTTCAGTGCTCTGAC
1422	ERAP1_006	TTCCAAGGAAATGGTGTCCCA
1423	ERAP1_007	CTTGGAATAAAATACGACTTC

【００９０】

【表４８】

配列番号	名称	配列
1424	ERAP1_008	CATGGATCAAGAGATCATAAT
1425	ERAP1_009	GTGGTTCCCCAGAAGGTCAGC
1426	ERAP1_010	TACTTTCGTGGTTCCCCAGAA
1427	ERAP1_011	CTCCTGACGGGGGTGTTCCAG
1428	ERAP1_012	TAAAATCCGTGGAAAGTCTCC
1429	ERAP1_013	GGAGACTTTCCACGGATTTTA
1430	ERAP1_014	CACGGATTTTACAAAAGCACC
1431	ERAP1_015	CAAAAGCACCTACAGAACCAA
1432	ERAP1_016	TTTCACTTGCCTTAATTTTAG
1433	ERAP1_017	ACTTGCCTTAATTTTAGGATA
1434	ERAP1_018	GGATACTAGCATCAACACAAT
1435	ERAP1_019	AACCCACTGCAGCTAGAATGG
1436	ERAP1_020	AAGGCAGGTTCATCAAAGCAG
1437	ERAP1_021	CCTGCTTTGATGAACCTGCCT
1438	ERAP1_022	ATTGAGAAACTTGCTTTGAAG
1439	ERAP1_023	ATGAACCTGCCTTCAAAGCAA
1440	ERAP1_024	TCAATCAAAATTAGAAGAGAG
1441	ERAP1_025	AATTATTCTGATTTTAGGTGA
1442	ERAP1_026	GGTGAAATCTGTGACTGTTGC
1443	ERAP1_027	ATGTCACTGTGAAGATGAGCA
1444	ERAP1_028	AGATTTTGAGTCTGTCAGCAA
1445	ERAP1_029	AGTCTGTCAGCAAGATAACCA
1446	ERAP1_030	TCTTGTCTGGCACAGCATAAA
1447	ERAP1_031	TCTTTAGGTTTCTGTTTATGC
1448	ERAP1_032	GGTTTCTGTTTATGCTGTGCC
1449	ERAP1_033	TGTTTATGCTGTGCCAGACAA
1450	ERAP1_034	TGCTGTGCCAGACAAGATAAA
1451	ERAP1_035	GGTAGGGGATACGGTATGCTG
1452	ERAP1_036	TGAGGATTATTTCAGCATACC
1453	ERAP1_037	AGCATACCGTATCCCCTACCC
1454	ERAP1_038	TTACTTCCTTCCCAAGATCTT
1455	ERAP1_039	CATAGCACCAGACTGAAAGTC
1456	ERAP1_040	AGTCTGGTGCTATGGAAAACT

【００９１】

【表４９】

配列番号	名称	配列
1457	ERAP1_041	TGCATCAAACAACAGAGCAGA
1458	ERAP1_042	ATGCAGAAAAGTCTTCTGCAT
1459	ERAP1_043	GTGGTTTGGGAACCTGGTCAC
1460	ERAP1_044	GGAACCTGGTCACTATGGAAT
1461	ERAP1_045	GCCAAAGATCATTCCACCATT
1462	ERAP1_046	GCAAATCCTTCATTTAGCCAA
1463	ERAP1_047	GCTAAATGAAGGATTTGCCAA
1464	ERAP1_048	CCAAATTTATGGAGTTTGTGT
1465	ERAP1_049	AGTTCAGGATGGGTCACACTG
1466	ERAP1_050	TGGAGTTTGTGTCTGTCAGTG
1467	ERAP1_051	TGTCTGTCAGTGTGACCCATC
1468	ERAP1_052	CCAAAGAAATAATCTCCCTAT
1469	ERAP1_053	TTTTTTCTATCTCAATAGGGA
1470	ERAP1_054	TATCTCAATAGGGAGATTATT
1471	ERAP1_055	AAGCATCTACCTCCATTGCGT
1472	ERAP1_056	TTTGGCAAATGTTTTGACGCA
1473	ERAP1_057	GCAAATGTTTTGACGCAATGG
1474	ERAP1_058	ACGCAATGGAGGTAGATGCTT
1475	ERAP1_059	CACAGGTGTAGACACAGGGTG
1476	ERAP1_060	AATTCCTCACACCCTGTGTCT
1477	ERAP1_061	CCTTATCATAAGAAACATCAT
1478	ERAP1_062	ATGATGTTTCTTATGATAAGG
1479	ERAP1_063	TATTATCTTTTCAGGGAGCTT
1480	ERAP1_064	AGGGAGCTTGTATTCTGAATA
1481	ERAP1_065	AATGCGTCAGCACTAAGATAC
1482	ERAP1_066	TAGCTATGCTTCTGGAGATAC
1483	ERAP1_067	AAAGTGGTATTGTACAGTATC
1484	ERAP1_068	TATTTTTATAGCTATGCTTCT
1485	ERAP1_069	CACCATCTGTAGGGCAAATCT
1486	ERAP1_070	TTTTTGGTTTTTAGATTTGCC
1487	ERAP1_071	GTTTTTAGATTTGCCCTACAG
1488	ERAP1_072	GATTTGCCCTACAGATGGTGT
1489	ERAP1_073	CCCTACAGATGGTGTAAAAGG

【００９２】

【表５０】

配列番号	名称	配列
1490	ERAP1_074	CTCTAGAAGTCAACATTCATC
1491	ERAP1_075	TGTACACACCAGCATTGGCAT
1492	ERAP1_076	ACATCCACCCCTTCCTGATGC
1493	ERAP1_077	CCCTAATAACCATCACAGTGA
1494	ERAP1_078	CTCTAGGAGCATTACCCAGTG
1495	ERAP1_079	TTTTAGGTACCTGTGGCATGT
1496	ERAP1_080	CTGGTGATGAATGTCAATGGA
1497	ERAP1_081	GGTACCTGTGGCATGTTCCAT
1498	ERAP1_082	GCAAAAATCGATGGACCATGT
1499	ERAP1_083	TTTTTAGCAAAAATCGATGGA
1500	ERAP1_084	CAAAATAAATTACCTGTTTTT
1501	ERAP1_085	ATTTATTTTATTTACTCTAGA
1502	ERAP1_086	TTTTATTTACTCTAGATGTGC
1503	ERAP1_087	TTTACTCTAGATGTGCTCATC
1504	ERAP1_088	CTCTAGATGTGCTCATCCTCC
1505	ERAP1_089	ATCCATTCCACCTCTTCTGGG
1506	ERAP1_090	ATGTGGGCATGAATGGCTATT
1507	ERAP1_091	AAAGGCCAGTCAAAGAGTCCC
1508	ERAP1_092	ACTGGCCTTTTAAAAGGAACA
1509	ERAP1_093	AAAGGAACACACACAGCAGTC
1510	ERAP1_094	TGCAGCGTGTATTACCTGACG
1511	ERAP1_095	AAGTACAGGGATAAATCCAAG
1512	ERAP1_096	ATGTTTCAAGTACAGGGATAA
1513	ERAP1_097	AGTTTCATGTTTCAAGTACAG
1514	ERAP1_098	TCCCTGTACTTGAAACATGAA
1515	ERAP1_099	AAGGTTTGAATGAGCTGATTC
1516	ERAP1_100	TCCATTAACTTATACATAGGA
1517	ERAP1_101	AATGAGCTGATTCCTATGTAT
1518	ERAP1_102	CACTTCATTCATATCTCTTTT
1519	ERAP1_103	CCTTGAATTGAGTTTCCACTT
1520	ERAP1_104	AGGCTTTTACCTTGAATTGAG
1521	ERAP1_105	TTTCAGGCTTTTACCTTGAAT
1522	ERAP1_106	CCTGTACAACGCCCTCAGGCC

【００９３】

【表５１】

配列番号	名称	配列
1523	ERAP1_107	TGAAATAGCCTTCTGCCCTCT
1524	ERAP1_108	CATTGGATTCCTTCCACTTTC
1525	ERAP1_109	AGAAAGTGGAAGGAATCCAAT
1526	ERAP1_110	GTAAGGACTGACCTCAAGTTT
1527	ERAP1_111	TTTTCTTAATCCTTCTAGGCT
1528	ERAP1_112	TTAATCCTTCTAGGCTACTAG
1529	ERAP1_113	TCTCCCTTAAAGCTTTCATCT
1530	ERAP1_114	TTTTATCTCCCTTAAAGCTTT
1531	ERAP1_115	TGGAAACTCCTGAGTTTTTAT
1532	ERAP1_116	AGGGAGATAAAATAAAAACTC
1533	ERAP1_117	CACAAATTCTTACACTCATTG
1534	ERAP1_118	CTCAGAAATTGCCAGGCCAGT
1535	ERAP1_119	TTCCAGTTTTTCCTCAGAAAT
1536	ERAP1_120	TACAAGTTTGTTCCAGTTTTT
1537	ERAP1_121	TGAGGAAAAACTGGAACAAAC
1538	ERAP1_122	GCACCACTTACTTTTGTACAA
1539	ERAP1_123	AATATTTCCCTCTCTAGGTTT
1540	ERAP1_124	CCTCTCTAGGTTTGAACTTGG
1541	ERAP1_125	AACTTGGCTCATCTTCCATAG
1542	ERAP1_126	TTGTACCCATTACCATGTGGG
1543	ERAP1_127	CCTCTTCAAGCCGTGTTCTTG
1544	ERAP1_128	AAAGAGCTGAAGAATCCTTTT
1545	ERAP1_129	TTTCAAAGAGCTGAAGAATCC
1546	ERAP1_130	CTCACAAGGTAAAAGGATTCT
1547	ERAP1_131	AAAGAAAATGGTTCTCAGCTC
1548	ERAP1_132	AATTGTCTGTTGGACACAACG
1549	ERAP1_133	TTCAATGGTTTCAATTGTCTG
1550	ERAP1_134	TCAAAATTCTTATCCATCCAA
1551	ERAP1_135	CAGCCACACTCTGATTTTATC
1552	ERAP1_136	ACTTTGCAGCCACACTCTGAT
1553	ERAP1_137	ATAAAATCAGAGTGTGGCTGC
1554	ERAP1_138	CATACGTTCAAGCTTTTCACT
1555	IFNGR1_001	TCCTACCCCTTGTCATGCAGG

【００９４】

【表５２】

配列番号	名称	配列
1556	IFNGR1_002	CTTTTTTATTTTCTTACAGTG
1557	IFNGR1_003	TTTTCTTACAGTGCCTACACC
1558	IFNGR1_004	TTACAGTGCCTACACCAACTA
1559	IFNGR1_005	CCTCTACGGTAAAAACAGGGA
1560	IFNGR1_006	CCGTAGAGGTAAAGAACTATG
1561	IFNGR1_007	TTCTTTTTAGTGTTAAGAATT
1562	IFNGR1_008	GTGTTAAGAATTCAGAATGGA
1563	IFNGR1_009	TCATCATTATTGTAATATTTC
1564	IFNGR1_010	ATGGATCACCAACATGATCAG
1565	IFNGR1_011	TGATCATGTTGGTGATCCATC
1566	IFNGR1_012	ACTCTGACCCAAAGAGAATTT
1567	IFNGR1_013	TCCAACCCTGGCTTTAACTCT
1568	IFNGR1_014	GGTCAGAGTTAAAGCCAGGGT
1569	IFNGR1_015	CATAGGCAGATTCTTTTTGTC
1570	IFNGR1_016	GGTGGTCCAATTTTTCCTGGG
1571	IFNGR1_017	TGATATCCAGTTTAGGTGGTC
1572	IFNGR1_018	CTTCTCCTCCTTTCTGATATC
1573	IFNGR1_019	CAAAAACTGAAGGGTGAAATA
1574	IFNGR1_020	ACCCTTCAGTTTTTGTAAATG
1575	IFNGR1_021	GGGATCATAATCGACTTCCTG
1576	IFNGR1_022	TAAATGGAGACGAGCAGGAAG
1577	IFNGR1_023	TTTTTTCATCTAGATCCAGTA
1578	IFNGR1_024	ATCTAGATCCAGTATAAAATA
1579	IFNGR1_025	AGTTGTAACACCCCACACATG
1580	IFNGR1_026	AGCAGAAGGAGTCTTACATGT
1581	IFNGR1_027	ACTTTTCAGTTGTAACACCCC
1582	IFNGR1_028	TACTGCTATTGAAAATGGTAA
1583	IFNGR1_029	TATTACCATTTTCAATAGCAG
1584	IFNGR1_030	TGCCTTTTTTAAGGTTCTCTT
1585	IFNGR1_031	AGGTTCTCTTTGGATTCCAGT
1586	IFNGR1_032	GATTCCAGTTGTTGCTGCTTT
1587	IFNGR1_033	CTACTCTTTCTAGTGCTTAGC
1588	IFNGR1_034	TTAATATAAAAACAGATGAAT

【００９５】

【表５３】

配列番号	名称	配列
1589	IFNGR1_035	TAGTGCTTAGCCTGGTATTCA
1590	IFNGR1_036	CTTCAATGGATTAATTTTCTT
1591	IFNGR1_037	TATTAAGAAAATTAATCCATT
1592	IFNGR1_038	ATCAATTTTTCTCCCCATAGA
1593	IFNGR1_039	TCCCCATAGATCTCTGTGGTA
1594	IFNGR1_040	TCTCTAAAGTAGCACTTCTTA
1595	IFNGR1_041	ATTCAGGTTTTGTCTCTAAAG
1596	IFNGR1_042	GAGACAAAACCTGAATCAAAA
1597	IFNGR1_043	TAAGGAAAATGGCTGGTATGA
1598	IFNGR1_044	CTTAGAAAAGGAGGTGGTCTG
1599	IFNGR1_045	CTGGATTGTCTTCGGTATGCA
1600	IFNGR1_046	TTCAGTAGTCACCACTTCTGT
1601	IFNGR1_047	TAGTATAACAGAAGTGGTGAC
1602	IFNGR1_048	AAGCGATGCTGCCAGGTTCAG
1603	IFNGR1_049	AGTAGTAACCAGTCTGAACCT
1604	IFNGR1_050	TGGAGTGATACGAGTTTAAAG
1605	IFNGR1_051	AACTCGTATCACTCCAGAAAT
1606	IFNGR1_052	TGGAGTGATCACTCTCAGAAC
1607	IFNGR1_053	ATACTGATTCCAGCTGTCTGG
1608	IFNGR1_054	GGGGAAATTCTGAGTCAGATA
1609	IFNGR1_055	TTATTTGGGGGAAATTCTGAG
1610	IFNGR1_056	ACCTTTATTATTTGGGGGAAA
1611	IFNGR1_057	TTTCACCTTTATTATTTGGGG
1612	IFNGR1_058	CCCCAAATAATAAAGGTGAAA
1613	IFNGR1_059	TTACGGTTATGAGCTCTTGTC
1614	IFNGR1_060	TCATAACCAAAGGAGGTGGGG
1615	IFNGR1_061	GTTATGATAAACCACATGTGC
1616	IFNGR1_062	CCGCTATCATCCACAAGTAGA
1617	IFNGR1_063	GAATCTTCTGTTGGTCTATAA
1618	IFNGR2_001	TCTGTCCCCCTCAAGACCCTC
1619	IFNGR2_002	CCAGCTGCCCGCTCCTCAGCA
1620	IFNGR2_003	AACTGCACTTGGTAGACAACA
1621	IFNGR2_004	AATAGTAAGCCGGTATTTCTG

【００９６】

【表５４】

配列番号	名称	配列
1622	IFNGR2_005	CTTCCCAGCACCGACAGTAAA
1623	IFNGR2_006	AATGTCACTCTACGCCTTCGA
1624	IFNGR2_007	TGGAGGCCCGACAGTCACTGA
1625	IFNGR2_008	TCTTTGTAATTCTTTTTCAGT
1626	IFNGR2_009	TAATTCTTTTTCAGTGACTGT
1627	IFNGR2_010	AGTGACTGTCGGGCCTCCAGA
1628	IFNGR2_011	ACATCGCTGATACCTCCACGG
1629	IFNGR2_012	CCAGTAATGGACATAATAACA
1630	IFNGR2_013	TTATTATGTCCATTACTGGGA
1631	IFNGR2_014	AAACAGGTCAAAGGCCCTTTC
1632	IFNGR2_015	AGTTATCCAATGAAATGGAGT
1633	IFNGR2_016	AGAAGCAACTCCATTTCATTG
1634	IFNGR2_017	ATTGGATAACTTAAAACCCTC
1635	IFNGR2_018	TTCCAAAGCAGTTGTGCCTGG
1636	IFNGR2_019	CAAGTCCAGGCACAACTGCTT
1637	IFNGR2_020	GAACAAAAGTAACATCTTTAG
1638	IFNGR2_021	GTAGCAAGATATGTTGCTTAA
1639	IFNGR2_022	GAGTCGGGCATTTAAGCAACA
1640	IFNGR2_023	CCATCTGCCATTGTTTCGTAG
1641	IFNGR2_024	AGCAACATATCTTGCTACGAA
1642	IFNGR2_025	GTGTCCTCTTTTTAGCCTCCA
1643	IFNGR2_026	GCCTCCACTGAGCTTCAGCAA
1644	IFNGR2_027	GTTGCTGTCGGTGCTGGCAGG
1645	IFNGR2_028	AGGACCAGGAAGAAACAGGCT
1646	IFNGR2_029	ATCAGGCCTCTATATTTCAGG
1647	IFNGR2_030	TTCCTGGTCCTGAAATATAGA
1648	IFNGR2_031	ACACTCCACCAAGCATCCCAT
1649	IFNGR2_032	CTTTCCAACCTCCTCAAGTAT
1650	IFNGR2_033	CAACCTCCTCAAGTATTTAAA
1651	IFNGR2_034	AAAGACCCAACTCAGCCCATC
1652	IFNGR2_035	GTGAGCTGTCCTTGTCCAAGG
1653	IFNGR2_036	CGGAAACGAGATAATGGACAC
1654	IFNGR2_037	GAGAACATCTTCTTGCTCCTT

【００９７】

【表５５】

配列番号	名称	配列
1655	IFNGR2_038	CGGAAAAGGAGCAAGAAGATG
1656	IFNGR2_039	GTTCAAAGCGTTTGGAGAACA
1657	JAK1_001	AAAATATGCAAATCTACATAC
1658	JAK1_002	CTTCCACAACAGTATCTAAAT
1659	JAK1_003	GCACAGAAAGCCATGGCATTG
1660	JAK1_004	TGTGCTAAAATGAGGAGCTCC
1661	JAK1_005	CTTTTCCTCAGGTATCTCTCC
1662	JAK1_006	CTCAGGTATCTCTCCTCTTTG
1663	JAK1_007	TCACAACCTCTTTGCCCTGTA
1664	JAK1_008	GAGCATACCAGAGCTTGGTGT
1665	JAK1_009	CCCTGTATGACGAGAACACCA
1666	JAK1_010	CTGCCTTCCAGGTTCTATTTC
1667	JAK1_011	ACCAATTGGCATGGAACCAAC
1668	JAK1_012	GAGAATGACGCCACACTGACT
1669	JAK1_013	TGCTTCTTTGGAGAATGACGC
1670	JAK1_014	TCGTAGCCATTTTTCTGCTTC
1671	JAK1_015	ACCAAATCATACTGTCCCTAG
1672	JAK1_016	TCCCCCTTGCTCCTAGGGACA
1673	JAK1_017	GTGAAATGCCTGGCTCCTATT
1674	JAK1_018	CCTGATGTCCTTGGGCAGTTC
1675	JAK1_019	TGGAATATATCGCTTGTAGCT
1676	JAK1_020	TACTGTCTTTTAGCTACAAGC
1677	JAK1_021	GCTACAAGCGATATATTCCAG
1678	JAK1_022	TCCGCATCCTGGTGAGAAGGT
1679	JAK1_023	GGAAATCCTTGAAAACATTAT
1680	JAK1_024	AAGGATTTCCTAAAGGAATTT
1681	JAK1_025	CTAAAGGAATTTAACAACAAG
1682	JAK1_026	ACAACAAGACCATTTGTGACA
1683	JAK1_027	ACCTTCAGGTCATGCGTGGAC
1684	JAK1_028	TGACAGCAGCGTGTCCACGCA
1685	JAK1_029	CAAGGTAGCCAAGTATTTCAC
1686	JAK1_030	TCAAAGTTTCCAAGGTAGCCA
1687	JAK1_031	AGCACCGTAATGTTTTGTCAA

【００９８】

【表５６】

配列番号	名称	配列
1688	JAK1_032	ACAAAACATTACGGTGCTGAA
1689	JAK1_033	TGATGAAATCAGTAACATGGA
1690	JAK1_034	AGACTTCCATGTTACTGATTT
1691	JAK1_035	ATCAGAAAATGAGATGAATTG
1692	JAK1_036	CACCGTCATTCGAATGAAACC
1693	JAK1_037	ATTCGAATGACGGTGGAAACG
1694	JAK1_038	TGCCTCCACTGGATTCCAAGA
1695	JAK1_039	GTTTATGCCTCCACTGGATTC
1696	JAK1_040	CTTTTCAACAGAAACAACCTG
1697	JAK1_041	TGTATCTTATCAGGTTGTTTC
1698	JAK1_042	TTTTTTTCCTTTTCAACAGAA
1699	JAK1_043	CGCTTCAGTTTATTTTTTTCC
1700	JAK1_044	TGTTGAAAAGGAAAAAAATAA
1701	JAK1_045	CAGTTTTTTCCGCTTCAGTTT
1702	JAK1_046	TTTTCCAGTTTTTTCCGCTTC
1703	JAK1_047	TCCTCATCCTTCTTGTGTTTA
1704	JAK1_048	AGGGAAGTAAGAAAAATTGTT
1705	JAK1_049	TTACAATGTGAGTGATTTCAG
1706	JAK1_050	TTACTTCCCTGAAATCACTCA
1707	JAK1_051	TTGTTGTCCTGCTTGTTAATG
1708	JAK1_052	TTCTCTCTCAACAGGAACTGA
1709	JAK1_053	TGTCCCTGGTAGATGGCTACT
1710	JAK1_054	TTGATGGCGTATTCTGTACTA
1711	JAK1_055	CCTACTTCTCCCTCTAGTACA
1712	JAK1_056	ACAACATCCTCATGACCGTCA
1713	JAK1_057	CCGAATAGCAGGTGCAGGGTG
1714	JAK1_058	AGATCGAGGTGCAGAAGGGCC
1715	JAK1_059	GCATGAAGCTGATGTTATCCG
1716	JAK1_060	TTAGTAGCCACCAGCAGGTTG
1717	JAK1_061	GATCGGATCCTCAAGAAGGAT
1718	JAK1_062	TCTTCTTCTCTTCAGAAGTTC
1719	JAK1_063	AGGATCACTTTTATCTTCTTC
1720	JAK1_064	TGGGAGACCTGTCTCATCATG

【００９９】

【表５７】

配列番号	名称	配列
1721	JAK1_065	AAAGAGAACACACTTACTCTC
1722	JAK1_066	TGCCTACAGATATCATGGTGG
1723	JAK1_067	CGGTGCATGAAGAGATCCAGA
1724	JAK1_068	TGGAAGGGGGTCCTCTGGATC
1725	JAK1_069	CATGGTGTGGTAAGGACATCG
1726	JAK1_070	AATTTCCATGGTGTGGTAAGG
1727	JAK1_071	GCAACTTTGAATTTCCATGGT
1728	JAK1_072	CATGGACCAGGTCTTTATCCT
1729	JAK1_073	CTCTGCAGGAGGATAAAGACC
1730	JAK1_074	GTACACACATTTCCATGGACC
1731	JAK1_075	CCAGAGCGTGGTTCCAAAGCT
1732	JAK1_076	GAACCACGCTCTGGGAAATCT
1733	JAK1_077	AAGGGGATCTCGCCATTGTAG
1734	JAK1_078	CAGAAAGAGAGATTCTATGAA
1735	JAK1_079	TTCCGAGCCATCATGAGAGAC
1736	JAK1_080	TGAAACAATATCTGGATCTAA
1737	JAK1_081	TTTTCTCTTCTGTTAGATCCA
1738	JAK1_082	TCTTCTGTTAGATCCAGATAT
1739	JAK1_083	AGAAAAAAAACCAGCAACTGA
1740	JAK1_084	AAAATGTGTGGGGTCCACTTC
1741	JAK1_085	GGAAGCGCTTTTCAAAATGTG
1742	JAK1_086	AAAAGCGCTTCCTAAAGAGGA
1743	JAK1_087	CCTCCAGGGCCACTTTGGGAA
1744	JAK1_088	GGAAGGTTGAGCTCTGCAGGT
1745	JAK1_089	ACAGCCACCTGCTCCCCTGTA
1746	JAK1_090	AGATCAGCTATGTGGTTACCT
1747	JAK1_091	CTTTTTCAGATCAGCTATGTG
1748	JAK1_092	TACTTCACAATGTTCTCATGA
1749	JAK1_093	TAAACAGGAGGAAATGGTATT
1750	JAK1_094	GAAGATATTCCTTAAGGCTTC
1751	JAK1_095	TGCCTTCGGGAAGCCTTAAGG
1752	JAK1_096	TTCTTATTCTTTGGAAGATAT
1753	JAK1_097	TTTTGTTCTTATTCTTTGGAA

【０１００】

【表５８】

配列番号	名称	配列
1754	JAK1_098	AGGTTTATTTTGTTCTTATTC
1755	JAK1_099	GCTGCTGTTTGAGGTTTATTT
1756	JAK1_100	CCTTACAAATCTGAACGGCAT
1757	JAK1_101	TTTTTTACCTTACAAATCTGA
1758	JAK1_102	CTTCTCTCTCTCAGGGGATGG
1759	JAK1_103	TTGCTGCCAAGTCCCGGTGAA
1760	JAK1_104	GGTTCTCGGCAATACGTTCAC
1761	JAK1_105	ACTTGGTGTTCACTCTCAACA
1762	JAK1_106	GTTAAACCGAAGTCTCCAATT
1763	JAK1_107	AATTGCTTTGGTTAAACCGAA
1764	JAK1_108	ACCAAAGCAATTGAAACCGAT
1765	JAK1_109	ATTCAGTTACCAAAACACAGG
1766	JAK1_110	TGTTCTGCTTCCTTTCAAGGT
1767	JAK1_111	GATTGCATTAAACATTCTGGA
1768	JAK1_112	AAGGTATGCTCCAGAATGTTT
1769	JAK1_113	ATGCAATCTAAATTTTATATT
1770	JAK1_114	TATTGCCTCTGACGTCTGGTC
1771	JAK1_115	GAGTCACTCTGCATGAGCTGC
1772	JAK1_116	TTTGATTTTATTTTATATAGT
1773	JAK1_117	ATTTTATTTTATATAGTTGTT
1774	JAK1_118	TTTTATATAGTTGTTCCTGAA
1775	JAK1_119	TATAGTTGTTCCTGAAAATGA
1776	JAK1_120	ACGTATTCACAAGTCTTGTGA
1777	JAK1_121	CTTCTTTTAACGTATTCACAA
1778	JAK1_122	CTCATAAGTTGATAAACCTGT
1779	JAK1_123	TTTTTACAGGTTTATCAACTT
1780	JAK1_124	CAGGTTTATCAACTTATGAGG
1781	JAK1_125	TCAACTTATGAGGAAATGCTG
1782	JAK1_126	AAAGTGCTTCAAATCCTTCAA
1783	JAK1_127	AGAACCTTATTGAAGGATTTG
1784	JAK1_128	AATGTTATTCATGCTTCTTAT
1785	JAK2_001	TGTCATCGTAAGGCAGGCCAT
1786	JAK2_002	CAGAAATATCACCATTCTGAT

【０１０１】

【表５９】

配列番号	名称	配列
1787	JAK2_003	CTTCATAGAATTGGCATTTCC
1788	JAK2_004	TGGAAATGCCAATTCTATGAA
1789	JAK2_005	CCAAGGGAATGGTAAAGATAC
1790	JAK2_006	CCATTCCCTTGGGAAATCTGA
1791	JAK2_007	TTCTGCAACATACTCCCCAGA
1792	JAK2_008	CATCTGGGGAGTATGTTGCAG
1793	JAK2_009	GAAGCAGCAATACAGATTTCT
1794	JAK2_010	ATACTTACCACAAGCTTTAGA
1795	JAK2_011	TCTGCTTCTTTTCTAGGTATC
1796	JAK2_012	TAGGTATCACACCTGTGTATC
1797	JAK2_013	ACTCATTAAAGCAAACATATT
1798	JAK2_014	TGTTTCACTCATTAAAGCAAA
1799	JAK2_015	CTTTAATGAGTGAAACAGAAA
1800	JAK2_016	ATGAGTGAAACAGAAAGGATC
1801	JAK2_017	CTGAAGAAAGTACCTTATTCT
1802	JAK2_018	TTATCTTGTAGATTTTACTTT
1803	JAK2_019	CTTTCCTCGTTGGTATTGCAG
1804	JAK2_020	CTCGTTGGTATTGCAGTGGCA
1805	JAK2_021	TCATGTCTTACCTCTTTGCTC
1806	JAK2_022	CTTCAAATTTTTGGTTTTAGT
1807	JAK2_023	TCCATCCGTGCACAAAATCAT
1808	JAK2_024	GTTTTAGTGGCGGCATGATTT
1809	JAK2_025	GTGGCGGCATGATTTTGTGCA
1810	JAK2_026	ATGAGTCACAGGTACTTTTAT
1811	JAK2_027	TGCACGGATGGATAAAAGTAC
1812	JAK2_028	GCTATTCTCATCATATCTAAC
1813	JAK2_029	TTTGGCTATTCTCATCATATC
1814	JAK2_030	ATCGTTTTCTTTGGCTATTCT
1815	JAK2_031	CAAAAGAAAATTACCTGATAG
1816	JAK2_032	GTAAGAATGTCTTGTAGCTAG
1817	JAK2_033	TCCCTAGCTACAAGACATTCT
1818	JAK2_034	CTCGAATACATTTTGGTAAGA
1819	JAK2_035	ACAAGGAAGCGAATAAGGTAC

【０１０２】

【表６０】

配列番号	名称	配列
1820	JAK2_036	CATTGGCTGAATTGCTGAATA
1821	JAK2_037	GCAGATTTATTCAGCAATTCA
1822	JAK2_038	TGGCAGTGGCTTTGCATTGGC
1823	JAK2_039	TTCAGCAATTCAGCCAATGCA
1824	JAK2_040	AAGTTTCTGGCAGTGGCTTTG
1825	JAK2_041	TAAGATACTTAAGTTTCAAGT
1826	JAK2_042	CAGATTTATAAGATACTTAAG
1827	JAK2_043	TCTGTGTAGAAGGCAGACTGC
1828	JAK2_044	CTTCAAATTTCTCTGTGTAGA
1829	JAK2_045	AAGTAAAAGAACCTGGAAGTG
1830	JAK2_046	CAGTTATTATAATGGTTGCAA
1831	JAK2_047	CAACCATTATAATAACTGGAA
1832	JAK2_048	CCTCTTGACCACTGAATTCCA
1833	JAK2_049	TGTTTCCCTCTTGACCACTGA
1834	JAK2_050	TTTATGTTTCCCTCTTGACCA
1835	JAK2_051	CATGCTTTTAATTATAGGATT
1836	JAK2_052	ATTATAGGATTTACAGTTATA
1837	JAK2_053	CAGTTATATTGCGATTTTCCT
1838	JAK2_054	CTTGCTTAATACTGACATCAA
1839	JAK2_055	CTAATATTATTGATGTCAGTA
1840	JAK2_056	AACCCTCTTGGTTTGCTTGCT
1841	JAK2_057	ATTTGAACCCTCTTGGTTTGC
1842	JAK2_058	CCATCTTGCTTATGGATAGTT
1843	JAK2_059	TTTTTCTTTTCTCTGCTTAGG
1844	JAK2_060	TTTTCTCTGCTTAGGAAATTG
1845	JAK2_061	TCTGCTTAGGAAATTGAACTT
1846	JAK2_062	TCTTTCGTGTCATTAATTGAT
1847	JAK2_063	GTGTCATTAATTGATGGATAT
1848	JAK2_064	CAGAGGTAATGATGTGCATCT
1849	JAK2_065	AAGCACGGCTGGAGGTGCTAC
1850	JAK2_066	TATATTTTCAAGCACGGCTGG
1851	JAK2_067	AGTCTGTATTACTCACGAAAT
1852	JAK2_068	CTAATGGCAAAATCCATCCTA

【０１０３】

【表６１】

配列番号	名称	配列
1853	JAK2_069	TTCAGTTTACTAATGGCAAAA
1854	JAK2_070	CCTTTAGGATGGATTTTGCCA
1855	JAK2_071	GGATGGATTTTGCCATTAGTA
1856	JAK2_072	CCATTAGTAAACTGAAGAAAG
1857	JAK2_073	TTAAAGTCCTTAGGACTGCAT
1858	JAK2_074	ATAAATATTTTTTGACTTTTG
1859	JAK2_075	TATTCAATGACATTTTCTCGC
1860	JAK2_076	TAATTAAACTTATACAGCGAG
1861	JAK2_077	TAATCAAACAGTGTTTATATT
1862	JAK2_078	ATTACAAAAAATGAGAATGAA
1863	JAK2_079	TCCCACTGAGGTTGTACTCTT
1864	JAK2_080	AGACTGCTGAAGTTCTTCTTT
1865	JAK2_081	CATCTGGTAACAATTCAAAAG
1866	JAK2_082	AATTGTTACCAGATGGAAACT
1867	JAK2_083	GTAAACTGGAAAATTATATTG
1868	JAK2_084	GGGGACAGCATTTAGTAAACT
1869	JAK2_085	GCTTTGGGGGACAGCATTTAG
1870	JAK2_086	CAGTTTACTAAATGCTGTCCC
1871	JAK2_087	CTAAATGCTGTCCCCCAAAGC
1872	JAK2_088	TTTTTTCAGATAAATCAAACC
1873	JAK2_089	AGATAAATCAAACCTTCTAGT
1874	JAK2_090	TGATGTACCAACCTCACCAAC
1875	JAK2_091	GTTCATATGAGTAGGCCTCTG
1876	JAK2_092	TGAAACACCATTTGGTTCATA
1877	JAK2_093	TGATTTTGTGAAACACCATTT
1878	JAK2_094	ACAAAATCAGAAATGAAGATT
1879	JAK2_095	TTTTACCTTTTTCTCTTGAAG
1880	JAK2_096	CCTTTTTCTCTTGAAGAATGA
1881	JAK2_097	TAAAAGTGCCTTGGCCAAGGC
1882	JAK2_098	TCTTGAAGAATGAAAGCCTTG
1883	JAK2_099	AAAATCTTTGTAAAAGTGCCT
1884	JAK2_100	CAAAGATTTTTAAAGGCGTAC
1885	JAK2_101	AAGGCGTACGAAGAGAAGTAG

【０１０４】

【表６２】

配列番号	名称	配列
1886	JAK2_102	ATGCAGTTGACCGTAGTCTCC
1887	JAK2_103	AAAGAACTTCTGTTTCATGCA
1888	JAK2_104	TCCAGAACTTTTAAAAGAACT
1889	JAK2_105	TGTGTGCTTTATCCAGAACTT
1890	JAK2_106	AAAGTTCTGGATAAAGCACAC
1891	JAK2_107	TACTTTTTTTTTTCCTTAGTC
1892	JAK2_108	CTTAGTCTTTCTTTGAAGCAG
1893	JAK2_109	TTTGAAGCAGCAAGTATGATG
1894	JAK2_110	AAGCAGCAAGTATGATGAGCA
1895	JAK2_111	AAACCAAATGCTTGTGAGAAA
1896	JAK2_112	TCACAAGCATTTGGTTTTAAA
1897	JAK2_113	GTTTTAAATTATGGAGTATGT
1898	JAK2_114	CTTACTCTCGTCTCCACAGAC
1899	JAK2_115	AATTATGGAGTATGTGTCTGT
1900	JAK2_116	CAAACTCCTGAACCAGAATAT
1901	JAK2_117	ATGCAGATATTCTGGTTCAGG
1902	JAK2_118	AGATATGTATCTAGTGATCCA
1903	JAK2_119	TTCTTTTTCAGATATGTATCT
1904	JAK2_120	TAAAATTTGGATCACTAGATA
1905	JAK2_121	GATCACTAGATACATATCTGA
1906	JAK2_122	TACAATTTTTATTCTTTTTCA
1907	JAK2_123	CATAATATATTTATACAATTT
1908	JAK2_124	GCAACTTCAAGTTTCCATAAT
1909	JAK2_125	ACTCTAATAGGAAGAAAACAC
1910	JAK2_126	GCACATACATTCCCATGAATA
1911	JAK2_127	CTGTCTTCCTGTCTTCTTCTC
1912	JAK2_128	ATGAAAGGAGGATTTCCTGTC
1913	JAK2_129	ATCAAACTTAGTGATCCTGGC
1914	JAK2_130	GCAAAACTGTAATACTAATGC
1915	JAK2_131	AAAGTTCTTCAGGAGAGAATA
1916	JAK2_132	AATGCATTCAGGTGGTACCCA
1917	JAK2_133	GGATTTTCAATGCATTCAGGT
1918	JAK2_134	AATTTTTAGGATTTTCAATGC

【０１０５】

【表６３】

配列番号	名称	配列
1919	JAK2_135	TCTGTTGCCAAATTTAAATTT
1920	JAK2_136	AATTTGGCAACAGACAAATGG
1921	JAK2_137	CCACAAAGTGGTACCAAAACT
1922	JAK2_138	GCAACAGACAAATGGAGTTTT
1923	JAK2_139	TCTCCTCCACTGCAGATTTCC
1924	JAK2_140	GTACCACTTTGTGGGAAATCT
1925	JAK2_141	TGGGAAATCTGCAGTGGAGGA
1926	JAK2_142	AGAATCCAGAGCACTTAGAGG
1927	JAK2_143	TGGTTCTTTAATTATAGAAGC
1928	JAK2_144	ATTATAGAAGCTACAATTTTA
1929	JAK2_145	GTGCAGGAAGCTGATGCCTAT
1930	JAK2_146	TGAAGATAGGCATCAGCTTCC
1931	JAK2_147	CTAATTCTGCCCACTTTGGTG
1932	JAK2_148	TAAGGTTTGCTAATTCTGCCC
1933	JAK2_149	AGGCCTTCTTTCAGAGCCATC
1934	JAK2_150	AGAGCCATCATACGAGATCTT
1935	JAK2_151	TGTTAATAGTTCATAATCTGG
1936	JAK2_152	TTTCTCCAGATTATGAACTAT
1937	JAK2_153	TCCAGATTATGAACTATTAAC
1938	JAK2_154	GTAACATGTCATTTTCTGTTA
1939	JAK2_155	TGGTGCCTTTGAAGACCGGGA
1940	JAK2_156	AAATGTCTCTCTTCAAACTGT
1941	JAK2_157	AAGACCGGGATCCTACACAGT
1942	JAK2_158	AAGAGAGACATTTGAAATTTC
1943	JAK2_159	CCTTGCCAAGTTGCTGTAGAA
1944	JAK2_160	AAATTTCTACAGCAACTTGGC
1945	JAK2_161	AAAAAATTCTGACAATTTACC
1946	JAK2_162	TACAGCAACTTGGCAAGGTAA
1947	JAK2_163	GGGTAATTTTGGGAGTGTGGA
1948	JAK2_164	GGAGTGTGGAGATGTGCCGGT
1949	JAK2_165	CAGCGACCACCTCCCCAGTGT
1950	JAK2_166	AAAGTCTCTTAGGTGCTCTTC
1951	JAK2_167	CCTTTCAAAGTCTCTTAGGTG

【０１０６】

【表６４】

配列番号	名称	配列
1952	JAK2_168	AATTTCCCTTTCAAAGTCTCT
1953	JAK2_169	AGGATTTCAATTTCCCTTTCA
1954	JAK2_170	AAAGGGAAATTGAAATCCTGA
1955	JAK2_171	CAATGTTGTCATGCTGTAGGG
1956	JAK2_172	AATGGGCAGCTTACCAGCACT
1957	JAK2_173	CACCTTTATGTTAAAAGGTCG
1958	JAK2_174	TGTTAAAAGGTCGGCGTAATC
1959	JAK2_175	AAGATAGTCTCGTAAACTTCC
1960	JAK2_176	TGTTTTTGAAGATAGTCTCGT
1961	JAK2_177	CCATATGGAAGTTTACGAGAC
1962	JAK2_178	CGAGACTATCTTCAAAAACAT
1963	JAK2_179	TGTGATCTATCCGTTCTTTAT
1964	JAK2_180	TACCAAGATACTCCATACCCT
1965	JAK2_181	TCCATAGGGTATGGAGTATCT
1966	JAK2_182	TCGTTGCCAGATCCCTGTGGA
1967	JAK2_183	ACTCTGTTCTCGTTCTCCACC
1968	JAK2_184	GTTAACCCAAAATCTCCAATT
1969	JAK2_185	TCTTGTGGCAAGACTTTGGTT
1970	JAK2_186	TAGTATTCTTTGTCTTGTGGC
1971	JAK2_187	GGTTAACCAAAGTCTTGCCAC
1972	JAK2_188	CTTTATAGTATTCTTTGTCTT
1973	JAK2_189	ACCAGGTTCTTTTACTTTATA
1974	JAK2_190	TCATACTGAAATATACTCACC
1975	JAK2_191	CAGGTATGCTCCAGAATCACT
1976	JAK2_192	TGTGGCCTCAGATGTTTGGAG
1977	JAK2_193	GAGCTTTGGAGTGGTTCTGTA
1978	JAK2_194	GAGTGGTTCTGTATGAACTTT
1979	JAK2_195	CTCTTCTCAATGTATGTGAAA
1980	JAK2_196	ACATACATTGAGAAGAGTAAA
1981	JAK2_197	TCATTGCCAATCATACGCATA
1982	JAK2_198	TTTTAGGAATTTATGCGTATG
1983	JAK2_199	GGAATTTATGCGTATGATTGG
1984	JAK2_200	TGCGTATGATTGGCAATGACA

【０１０７】

【表６５】

配列番号	名称	配列
1985	JAK2_201	ATAGAACTTTTGAAGAATAAT
1986	JAK2_202	AAGAATAATGGAAGATTACCA
1987	JAK2_203	GTTTATTTTCTCCTTTACAGA
1988	JAK2_204	TTTTCTCCTTTACAGATCTAT
1989	JAK2_205	TCCTTTACAGATCTATATGAT
1990	JAK2_206	CAGATCTATATGATCATGACA
1991	JAK2_207	CATTATTGTTCCAGCATTCTG
1992	JAK2_208	ATCCACTCGAAGAGCTAGATC
1993	JAK2_209	GGGATCTAGCTCTTCGAGTGG
1994	JAK2_210	ATCCAGCCATGTTATCCCTTA
1995	JAK2_211	TTTCATCCAGCCATGTTATCC
1996	TRAC043	GAGTCTCTCAGCTGGTACACG
1997	TRAC049	TCTGTGATATACACATCAGAA
1998	TRAC051	TTGCTCCAGGCCACAGCACTG
1999	TRBC1_2_001	GGTGTGGGAGATCTCTGCTTC
2000	TRBC1_2_003	AGCCATCAGAAGCAGAGATCT
2001	CD3E_24	AGATCCAGGATACTGAGGGCA
2002	CD3E_34	CTTCCTCTGGGGTAGCAGACA
2003	CD3E_40	CCCTCCTTCCTCCGCAGGACA
2004	CD3D_002	CCCTTTAGTGAGCCCCTTCAA
2005	CD3D_003	GTGAGCCCCTTCAAGATACCT
2006	CD3D_005	CCAGGTCCAGTCTTGTAATGT
2007	CD3G_001	CCGGAGGACAGAGACTGACAT
2008	CD3G_023	CAGGTACTTTGGCCCAGTCAA
2009	CD247_001	TGAGGGAAAGGACAAGATGAA
2010	CD247_002	ACCGCGGCCATCCTGCAGGCA
2011	CD247_004	GGATCCAGCAGGCCAAAGCTC
2012	B2M_30	AGTGGGGGTGAATTCAGTGTA
2013	B2M_4	CTCACGTCATCCAGCAGAGAA
2014	NLRC5_002	GGGAAGGCTGGCATGGGCAAG
2015	NLRC5_011	GGGCCACTCACAGCCTGCTGA
2016	NLRC5_019	ATGGCTGTCCCCTGGAGCCCC
2017	CIITA_65	GCAGCACGTGGTACAGGAGCT

【０１０８】

【表６６】

配列番号	名称	配列
2018	CIITA_80	CAAGGACTTCAGCTGGGGGAA
2019	CIITA_36	TGGGCTCAGGTGCTTCCTCAC

【０１０９】

特定の実施形態において、ガイド核酸は、以下のｇＮＡ修飾のセクションに記載されるように５’末端、３’末端、及び／若しくは両方において又はその近くに、１つ以上のヌクレオチド及び／又はヌクレオチド間結合に対する１つ以上の化学修飾、例えば、２’－Ｏ－アルキル、２’－Ｏ－メチル、ホスホロチオエート、ホスホノアセテート、チオホスホノアセテート、２’－Ｏ－メチル－３’－ホスホロチオエート、２’－Ｏ－メチル－３’－ホスホノアセテート、２’－Ｏ－メチル－３’－チオホスホノアセテート、２’－デオキシ－３’－ホスホノアセテート、２’－デオキシ－３’－チオホスホノアセテート、又はそれらの組合せを含む。

【０１１０】

特定の実施形態において、１つ以上のガイド核酸は、１つ以上のヌクレアーゼと複合体形成され得、例えば、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体であり得る。特定の実施形態において、１つ以上のガイド核酸、１つ以上の核酸誘導型ヌクレアーゼ、及び／又は１つ以上の核酸誘導型ヌクレアーゼは、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体を安定させる１つ以上の添加剤をさらに含み得る。核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体の例示的な例が、図６に示される。具体的には、図６は、モジュレーター核酸（６０６）及びターゲッター核酸（６０７）を含むデュアルｇＮＡと複合体形成されたＶ－Ａ型核酸誘導型ヌクレアーゼ（６０１）を示し、ここで、モジュレーター核酸及びターゲッター核酸は、ステムを通してハイブリダイズされる。ターゲッター核酸は、好適なＰＡＭ（６０３）に隣接する標的ポリヌクレオチド（６０２）中に、標的ヌクレオチド配列（６０４）と少なくとも部分的に相補的なスペーサー配列（６０５）、すなわち、プロトスペーサーをさらに含む。標的ヌクレオチド配列に結合すると、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体は、標的ヌクレオチド配列において又はその近くに、標的ポリヌクレオチドにおける１つ以上の鎖切断（６０８）を生成し得る。

【０１１１】

任意の好適なドナーテンプレートが、以下のドナーテンプレートのセクションに記載されるように使用され得る。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含み、ここで、ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）又はその部分を含む。ポリヌクレオチドは、上述される任意の好適な数のＣＡＲ又はデュアルＣＡＲをコードし得る。

【０１１２】

特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、以下のｇＮＡ修飾のセクションに記載されるように５’末端、３’末端、及び／若しくは両方において又はその近くに、１つ以上のヌクレオチド及び／又はヌクレオチド間結合に対する１つ以上の化学修飾、例えば、２’－Ｏ－アルキル、２’－Ｏ－メチル、ホスホロチオエート、ホスホノアセテート、チオホスホノアセテート、２’－Ｏ－メチル－３’－ホスホロチオエート、２’－Ｏ－メチル－３’－ホスホノアセテート、２’－Ｏ－メチル－３’－チオホスホノアセテート、２’－デオキシ－３’－ホスホノアセテート、２’－デオキシ－３’－チオホスホノアセテート、又はそれらの組合せを含む。

【０１１３】

Ｆ．ＣＡＲを含むように細胞を操作するための方法

特定の実施形態において、方法が本明細書において提供される。特定の実施形態において、ヒト細胞などの細胞を操作するための方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、方法は、１つ以上のＣＡＲ又はデュアルＣＡＲを含むように細胞を操作するためのものである。特定の好ましい実施形態において、上記のＣＡＲを含むように細胞を操作するための組成物及び／又はキットのセクションに記載されるようないずれかの組成物を使用して、上記のＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドを含む細胞又はＣＡＲを含む細胞集団のセクションに記載されるようないずれかの組成物を生成する方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、核酸誘導型ヌクレアーゼ、ガイド核酸、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体、それをコードする１つ以上のポリヌクレオチド、ドナーテンプレート、及び／又はそれらの好適な組合せが、細胞内に送達され、ここで、１つ以上の成分が、ヌクレアーゼに移され、それによって、１つ以上のゲノム修飾が生

成される。

【０１１４】

例示的な方法が、図７に示される。具体的には、図７Ａは、細胞（７０３）に送達される核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体（７０１）及びドナーテンプレート（７０２）を示し、ここで、１つ以上の成分が、ヌクレアーゼ（７０４）に移される。特定の実施形態において、核酸誘導型ヌクレアーゼは、１つ以上のヌクレアーゼ局在化シグナル（上記に及び以下のリボヌクレオタンパク質（ＲＮＰ）のセクションに記載されるような）を含む。このような場合、図７Ｂに示されるように、１つ以上の核局在化シグナル（７０５）及びドナーテンプレート（７０６）を含む核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体は、細胞（７０８）に送達され、ここで、ドナーテンプレート（７０６）及び核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体（７０５）が一緒に結合し（７０７）、１つ以上の核局在化シグナルによって補助されるヌクレアーゼ（７０９）中に移される。

【０１１５】

特定の実施形態において、標的細胞のゲノムにおける１つ以上の修飾を生成するための方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、本方法は、同時に又は連続して、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、若しくは５０及び／又は２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、若しくは１００個以下のゲノム修飾、例えば、１～１００個のゲノム修飾、好ましくは、１～２０個のゲノム修飾を生成し得る（以下のマルチプレックス法のセクションを参照）。特定の実施形態において、第１のゲノム修飾が、１つ以上の標的細胞内に導入され、ここで、標的細胞は、野生型細胞又は１つ以上のゲノム修飾を含む細胞を含む（上記のＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドを含む細胞又はＣＡＲを含む細胞集団のセクションを参照）。特定の実施形態において、標的細胞は、上記のＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドを含む細胞又はＣＡＲを含む細胞集団のセクションに記載されるように、改変細胞の１つ以上を含む。特定の実施形態において、本方法は、１つ以上の標的細胞における１つ以上のゲノム修飾を生成することを含み、ここで、１つ以上のゲノム修飾が、同時に生成される。特定の実施形態において、本方法は、１つ以上の標的細胞における１つ以上のゲノム修飾を生成することを含み、ここで、ゲノム修飾の１つ以上が、連続して生成される。１つ以上のゲノム修飾が連続して導入される特定の実施形態において、１つ以上のゲノム修飾は、任意の好適な量、順序、及び／又は組合せで導入されてもよい。例えば、３つのゲノム修飾（Ａ、Ｂ、及びＣ）を１つ以上の細胞内に導入する場合、３つのゲノム修飾は、以下の順序のいずれか１つで導入され得る：（１）Ａ、次にＢ、次にＣ；（２）Ａ、次にＣ、次にＢ；（３）Ａ及びＢ、次にＣ；（４）Ａ、次にＢ及びＣ；（５）Ａ及びＣ、次にＢ；（６）Ａ、次にＣ及びＢ；（７）Ｂ、次にＡ、次にＣ；（８）Ｂ、次にＣ、次にＡ；（９）Ｂ及びＡ、次にＣ；（１０）Ｂ、次にＡ及びＣ；（１１）Ｂ及びＣ、次にＡ；（１２）Ｂ、次にＣ及びＡ；（１３）Ｃ、次にＡ、次にＢ；（１４）Ｃ、次にＢ、次にＡ；（１５）Ｃ及びＡ、次にＢ；（１６）Ｃ、次にＡ及びＢ；（１７）Ｃ、次にＢ及びＡ；（１８）Ｃ及びＢ、次にＡ；又は（１９）Ａ及びＢ及びＣ。例示的な方法が、図８Ａに示される。具体的には、図８Ａは、開始細胞（８０２）に送達される１つ以上のゲノム修飾（８０１）を生成するための第１の組の成分を示し、それによって、第１の操作された細胞又は複数の細胞集団（８０３）が生成される。第１の操作された細胞又は複数の細胞集団（８０３）は、最終的な得られる細胞又は複数の細胞集団（８０４）であり得、及び／又は１つ以上のゲノム修飾（８０５）を生成するためのさらなる組の成分が、（８０３）に送達され、第２の操作された細胞又は複数の細胞集団（８０６）をもたらし得る。このプロセスは、必要に応じて何回も繰り返され得る。言い換えると、複数の外因性核酸を、標的細胞のゲノム中に導入するための方法であって、標的細胞を、核酸誘導型ヌクレアーゼ（Ｎ）$_x$、ガイド核酸（ｇＮＡ）$_x$、及び／又はドナーテンプレート（Ｄ）$_x$を含む組成物と接触させることを含む方法が、本明細書において提供され、ここで、組成物の１つ以上の成分が、宿主細胞媒介性の組換え、例えば、標的細胞のゲノムの複数の標的部位から選択される標的部位（ＴＳ

）$_x$における（Ｄ）$_x$の少なくとも一部のＨＤＲ又は相同的組換えを開始させることが可能であり、ここで、各標的部位について、（Ｎ）$_x$は、（ＴＳ）$_x$において開裂して、（Ｄ）$_x$の少なくとも一部の相同的組換えをもたらすことが可能であり、ここで、整数（ｘ）は、ゲノムの好適な位置に導入されるゲノム修飾を表す。例えば、単一のゲノム修飾（ｘ＝１）については、組成物は、第１の核酸誘導型ヌクレアーゼ（Ｎ）$_1$、第１のガイド核酸（ｇＮＡ）$_1$、及び／又は第１のドナーテンプレート（Ｄ）$_1$を含む。複数のゲノム修飾については、ｘが、任意の好適な整数、例えば、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、若しくは４０及び／又は５０、４０、３０、２０、１０、９、８、７、６、５、４、３、若しくは２以下であり得、ここで、組成物は、好適な数の各成分を含む。特定の実施形態において、複数のゲノム修飾、２つ以上が、連続して生成され得る。特定の実施形態において、複数のゲノム修飾は、同時に生成され得る。

【０１１６】

特定の実施形態において、１つ以上の好適なヒト細胞を操作するための方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、細胞は、１つ以上の好適なヒト幹細胞又はヒト免疫細胞を含む。特定の実施形態において、細胞は、好中球、好酸球、好塩基球、肥満細胞、単球、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、リンパ球、又はそれらの組合せを含む免疫細胞を含む１つ以上のヒト細胞を含む。特定の実施形態において、細胞は、１つ以上のＴ細胞を含む。特定の実施形態において、細胞は、１つ以上のキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）－Ｔ細胞を含む。特定の実施形態において、ＣＡＲ　Ｔ細胞は、ＣＡＲ又はその部分を含む。特定の実施形態において、ＣＡＲ　Ｔ細胞は、２つ以上のＣＡＲポリペプチド又はその部分を含む。特定の実施形態において、ＣＡＲ　Ｔ細胞は、２つのＣＡＲポリペプチド又はその部分を含み、ここで、第２のＣＡＲ　ポリペプチドは、第１のＣＡＲポリペプチドと異なる。特定の実施形態において、ＣＡＲ　Ｔ細胞は、デュアルＣＡＲ又はその部分を含む。特定の実施形態において、細胞は、ヒト万能性、多能性幹細胞、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞、造血幹細胞、ＣＤ３４＋細胞、それらの組合せを含む１つ以上のヒト幹細胞を含む。好ましい実施形態において、細胞は、１つ以上の造血幹細胞を含む。好ましい実施形態において、細胞は、１つ以上のＣＤ３４＋幹細胞を含む。好ましい実施形態において、細胞は、１つ以上の人工多能性幹細胞（ｉＰＳＣ）を含む。特定の実施形態において、細胞は、同種異系細胞を含む。

【０１１７】

特定の実施形態において、１つ以上の導入されたゲノム修飾を含む１つ以上の細胞が、成長、例えば、増殖、又は分化され、例えば、ｉＰＳＣは、Ｔ細胞へと分化される。２つ以上のゲノム修飾が連続して導入される特定の実施形態において、１つ以上の標的細胞は、第１の組のゲノム修飾の後に増殖され、ここで、第２の組のゲノム修飾が、第１の組の細胞の子孫に導入される。特定の実施形態において、幹細胞は、１つ以上のゲノム修飾の導入の前又は後に分化される。特定の実施形態において、幹細胞は、１つ以上のゲノム修飾の導入の後に分化される。例示的な方法が、図８Ｂに示される。具体的には、細胞は、第１の組のゲノム修飾の導入の後に成長又は増殖され得（８０７）、ここで、第２の組のゲノム修飾は、細胞又は複数の細胞集団の子孫に導入される。特定の実施形態において、細胞は、操作プロセスの任意の段階で分化され得（８０８）、例えば、ｉＰＳＣは、複数のゲノム修飾を受けた後、免疫細胞に分化され得る。

【０１１８】

特定の実施形態において、１つ以上のゲノム修飾が、細胞の集団中に導入され、ここで、得られる細胞集団は、異なる組のゲノム修飾をそれぞれ受けた複数の細胞集団を含む（上記のＣＡＲを含む細胞集団のセクションを参照）。例えば、連続して及び／又は同時に、３つのゲノム修飾（Ａ、Ｂ、Ｃ）を細胞の集団中に導入する場合、得られる複数の細胞集団は、以下の細胞集団の任意の数及び／又はその組合せを損ない得る：（１）Ａ、（２）ＡＢ、（３）ＡＣ、（４）ＡＢＣ、（５）Ｂ、（６）ＢＣ、（７）Ｃ、及び／又は（８）ゲノム修飾なし。特定の実施形態において、複数の細胞集団における各細胞集団が、他の細胞集団に対して任意のパーセンテージで存在することができ、ここで、各集団の相対

的パーセンテージが、限定はされないが、編集成分の送達効率、編集成分の質、編集成分の濃度、編集イベントの相対的効率及び特異性、細胞の活力、及び／又は１つ以上のゲノム修飾の前若しくは後の細胞の活力を含む多くの要因によって影響される。

【０１１９】

特定の実施形態において、細胞を操作するための方法であって、１つ以上の部位特異的ヌクレアーゼを１つ以上の標的細胞に送達することを含む方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、１つ以上の部位特異的ヌクレアーゼは、ポリペプチドとして標的細胞に送達される。特定の実施形態において、１つ以上の部位特異的ヌクレアーゼは、核酸誘導型ヌクレアーゼシステム、例えば、ＣＲＩＳＰＲ／ｃａｓシステムを含む。特定の実施形態において、ヌクレアーゼシステムの１つ以上の成分をコードする１つ以上のポリヌクレオチドが、標的細胞に送達される。好ましい実施形態において、核酸誘導型ヌクレアーゼシステムは、Ｖ型ヌクレアーゼ、より好ましくは、Ｖ－Ａ型ヌクレアーゼ、さらにより好ましくは、ＭＡＤ２、ＭＡＤ７、ＡＲＴ２、ＡＲＴ１１、ＡＲＴ１１＊ヌクレアーゼ、さらにより好ましくは、ＭＡＤ７ヌクレアーゼを含む。

【０１２０】

特定の実施形態において、１つ以上のゲノム修飾が導入される部位内に標的ヌクレオチド配列に少なくとも部分的に相補的なスペーサー配列を含む１つ以上のガイド核酸が、標的細胞に送達される。特定の実施形態において、１つ以上の核酸誘導型ヌクレアーゼが、標的細胞に送達される。特定の実施形態において、１つ以上のガイド核酸及び核酸誘導型ヌクレアーゼの組合せが、標的細胞に送達され、ここで、１つ以上の核酸誘導型ヌクレアーゼは、任意に、ガイド核酸と複合体形成される（以下のリボヌクレオタンパク質（ＲＮＰ）のセクションを参照）。特定の実施形態において、１つ以上の完全に形成された核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体、例えば、ＲＮＰが送達される。いくつかの場合、ＣＡＲを含むように細胞を操作するための組成物及び／又はキットのセクションに記載されるような実施形態のいずれか１つが、標的細胞に送達され得る。

【０１２１】

ＩＩ．操作された非天然デュアルガイドＣＲＩＳＰＲ－ｃａｓシステム

ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、一般に、Ｃａｓタンパク質及び１つ以上のガイド核酸（ｇＮＡ）を含む。Ｃａｓタンパク質は、ＤＮＡの非標的鎖におけるプロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）を認識することによって、二本鎖ＤＮ標的における特定の位置に指向され得、１つ以上のガイド核酸は、標的ポリヌクレオチドの標的鎖における、本明細書において標的配列とも呼ばれる標的ヌクレオチド配列とハイブリダイズすることによって、特定の位置に指向され得る。典型的に、ＰＡＭ認識及び標的ヌクレオチド配列ハイブリダイゼーションは両方とも、ＤＮＡ標的へのＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ複合体の安定した結合及び、Ｃａｓタンパク質がエフェクター機能（例えば、ヌクレアーゼ活性）を有する場合、エフェクター機能の活性化のために必要とされる。結果として、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムを生成する場合、ガイド核酸が、標的ヌクレオチド配列に少なくとも部分的に相補的であり、それとハイブリダイズし得るスペーサー配列と呼ばれるヌクレオチド配列を含むように設計され得、ここで、標的ヌクレオチド配列は、Ｃａｓタンパク質で動作可能な配向でＰＡＭに隣接して配置される。これらの基準によって設計される全てのＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムが同様に有効であるわけではないことが観察されている。標的ヌクレオチド配列が配置されるより大きいポリヌクレオチドは、標的ポリヌクレオチドと呼ばれ得；例えば、染色体又は他のゲノムＤＮＡ、又はその部分、又は標的ヌクレオチド配列が中に配置される任意の他の好適なポリヌクレオチドである。二本鎖ＤＮＡにおける標的ポリヌクレオチドは、２つの鎖を含む。スペーサー配列が相補的であるＤＮＡ二重鎖の鎖は、本明細書において「標的鎖」と呼ばれる一方、スペーサー配列が配列同一性を共有する鎖は、本明細書において「非標的鎖」と呼ばれる。

【０１２２】

２つの異なるクラスのＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムが同定されている。クラス１　ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、多重タンパク質エフェクター複合体を用いる一方、クラ

ス２　ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、単一タンパク質エフェクターを用いる（Ｍａｋａｒｏｖａ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＣＥＬＬ，１６８：３２８を参照）。クラス２　ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムのタイプの中でも、ＩＩ型及びＶ型システムは、典型的に、ＤＮＡを標的とし、ＶＩ型システムは、典型的に、ＲＮＡ（ｉｄ．）を標的とする。天然ＩＩ型エフェクター複合体は、Ｃａｓ９、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）、及びｔｒａｎｓ活性化ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）を含むが、ｃｒＲＮＡ及びｔｒａｃｒＲＮＡは、簡単にするために操作されたシステムにおいてシングルガイドＲＮＡとして融合され得る（Ｗａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．（２０１６）ＡＮＮＵ．ＲＥＶ．ＢＩＯＣＨＥＭ．，８５：２２７を参照）。いくつかの天然Ｖ型システム、例えば、Ｖ－Ａ型、Ｖ－Ｃ型、及びＶ－Ｄ型システムは、ｔｒａｃｒＲＮＡを必要とせず、標的ＤＮＡの切断のためのガイドとして単独のｃｒＲＮＡを使用する（Ｚｅｔｓｃｈｅ　ｅｔ　ａｌ．（２０１５）ＣＥＬＬ，１６３：７５９；Ｍａｋａｒｏｖａ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＣＥＬＬ，１６８：３２８を参照。

【０１２３】

天然ＩＩ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステム（例えば、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システム）は、一般に、ｃｒＲＮＡ及びｔｒａｃｒＲＮＡと呼ばれる２つのガイド核酸を含み、これは、ヌクレオチドハイブリダイゼーションによって複合体を形成する。ＩＩ型Ｃａｓヌクレアーゼを活性化することが可能なシングルガイド核酸が、例えば、ｃｒＲＮＡ及びｔｒａｃｒＲＮＡを連結することによって開発された（例えば、米国特許第１０，２６６，８５０号明細書及び同第８，９０６，６１６号明細書を参照）。天然ＩＩ型Ｃａｓタンパク質は、ＲｕｖＣ様ヌクレアーゼドメイン及びＨＮＨエンドヌクレアーゼドメインを含み、配位として非標的鎖（すなわち、スペーサー配列とハイブリダイズされない鎖）を用いて決定される配向である、標的ヌクレオチド配列からすぐ下流に位置する３’Ｇ－リッチＰＡＭを認識する。ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、二本鎖ＤＮＡを切断して、平滑末端を生成する。切断部位は、一般に、非標的鎖におけるＰＡＭから上流の３～４つのヌクレオチドである。

【０１２４】

天然Ｖ－Ａ型、Ｖ－Ｃ型、及びＶ－Ｄ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、ｔｒａｃｒＲＮＡを欠き、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ複合体を標的ポリヌクレオチドに誘導するために単一のｃｒＲＮＡに依存する。Ｖ－Ａ型、Ｖ－Ｃ型、又はＶ－Ｄ型Ｃａｓヌクレアーゼを活性化することが可能なデュアルガイド核酸は、例えば、単一のｃｒＲＮＡをターゲッター核酸及びモジュレーター核酸に分割することによって開発された（例えば、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／０６７７８８号パンフレットを参照）。天然Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、ＲｕｖＣ様ヌクレアーゼドメインを含むが、ＨＮＨエンドヌクレアーゼドメインを欠き、非標的鎖を用いて決定される配向である、配位として標的ヌクレオチド配列（すなわち、スペーサー配列とハイブリダイズされない鎖）からすぐ上流に位置する５’Ｔ－リッチＰＡＭを認識する。これらのＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、二本鎖ＤＮＡを切断して、平滑末端ではなく互い違いの二本鎖切断を生成する。切断部位は、ＰＡＭ部位から離れている（例えば、非標的鎖上のＰＡＭから下流に少なくとも１０、１１、１２、１３、１４、若しくは１５ヌクレオチドだけ隔てられ、及び／又は標的鎖上のＰＡＭに相補的な配列から上流に少なくとも１５、１６、１７、１８、若しくは１９ヌクレオチドだけ隔てられている）。

【０１２５】

例示的なシングルガイドＣＲＩＳＰＲ　Ｃａｓシステム、例えば、Ｖ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステム中の要素が、図１Ａに示される。単一のｇＮＡは、それがＲＮＡの形態で存在する場合、「ｃｒＲＮＡ」又は「単一のｇＲＮＡ」とも呼ばれ得る。それは、５’から３’に、任意の５’配列、例えば、テール、モジュレーターステム配列、ループ、モジュレーターステム配列に相補的なターゲッターステム配列、及び標的ポリヌクレオチドの標的鎖中の標的配列に少なくとも部分的に相補的であり、それとハイブリダイズし得るスペーサー配列を含み得る。５’テールが存在する場合、５’テール及びモジュレータース

テム配列を含む配列は、本明細書において「モジュレーター配列」とも呼ばれる。本明細書において「足場配列」とも呼ばれる任意の５’テールからターゲッターステム配列へのシングルガイド核酸の断片は、Ｃａｓタンパク質に結合する。さらに、標的ＤＮＡの非標的鎖中のＰＡＭは、Ｃａｓタンパク質に結合する。

【０１２６】

例示的なデュアルガイド型ＣＲＩＳＰＲ Ｃａｓシステム、例えば、デュアルガイドＶ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステム中の要素が、図１Ｂに示される。本明細書において「モジュレーター核酸」と呼ばれ得る第１のガイド核酸は、５’から３’に、任意の５’テール及びモジュレーターステム配列を含む。５’テールが存在する場合、５’テール及びモジュレーターステム配列を含む配列は、本明細書において「モジュレーター配列」とも呼ばれ得る。本明細書において「ターゲッター核酸」と呼ばれ得る第２のガイド核酸は、５’から３’に、モジュレーターステム配列に相補的なターゲッターステム配列及び標的ポリヌクレオチドの標的鎖中の標的配列に少なくとも部分的に相補的であり、それとハイブリダイズし得るスペーサー配列を含む。モジュレーターステム配列とターゲッターステム配列との間の二重鎖、及び任意の５’テールは、Ｃａｓタンパク質に結合する構造を構成する。さらに、標的ＤＮＡの非標的鎖中のＰＡＭは、Ｃａｓタンパク質に結合する。デュアルｇＮＡ、例えば、デュアルｇＲＮＡにおいて、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、同じ核酸中にない、すなわち、従来のポリヌクレオチド間結合を介して末端間連結されていない一方、これらの核酸中に導入される１つ以上の化学修飾を介して互いに共有結合によりコンジュゲートされ得、それによって、二本鎖複合体の安定性を高め、及び／又はシステムの他の特徴を改善することが理解される。

【０１２７】

「ターゲッターステム配列」及び「モジュレーターステム配列」という用語は、本明細書で使用される場合、互いにハイブリダイズする１つ以上のガイド核酸における一対のヌクレオチド配列を指し得る。ターゲッターステム配列及びモジュレーターステム配列が、シングルガイド核酸に含まれる場合、ターゲッターステム配列は、標的ヌクレオチド配列とハイブリダイズするように設計されたスペーサー配列の近位にあり、モジュレーターステム配列は、ターゲッターステム配列の近位にある。ターゲッターステム配列及びモジュレーターステム配列が、別個の核酸中にある場合、ターゲッターステム配列は、標的ヌクレオチド配列とハイブリダイズするように設計されたスペーサー配列と同じ核酸中にある。別個のｃｒＲＮＡ及びｔｒａｃｒＲＮＡ（例えば、ＩＩ型システム）を天然に含むＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムにおいて、ターゲッターステム配列とモジュレーターステム配列との間に形成される二重鎖は、ｃｒＲＮＡとｔｒａｃｒＲＮＡとの間に形成される二重鎖に対応する。単一のｃｒＲＮＡを天然に含むが、ｔｒａｃｒＲＮＡ（例えば、Ｖ－Ａ型システム）を含まないＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムにおいて、ターゲッターステム配列とモジュレーターステム配列との間に形成される二重鎖は、ｃｒＲＮＡの足場配列中のステム－ループ構造のステム部分に対応する。１００％の相補性が、ターゲッターステム配列とモジュレーターステム配列との間で必要とされないことが理解される。しかしながら、Ｖ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムにおいて、ターゲッターステム配列は、典型的に、モジュレーターステム配列に対して１００％相補的である。

【０１２８】

Ａ．Ｃａｓタンパク質

単独のシングルガイド核酸（ターゲッター及びモジュレーター核酸が、単一のポリヌクレオチドの一部である）として又は同種のモジュレーター核酸と組み合わせて使用される別個のターゲッター核酸を含むデュアルｇＮＡとしてのガイド核酸は、ＣＲＩＳＰＲ関連（Ｃａｓ）タンパク質、例えば、ＣａｓヌクレアーゼＣに結合することが可能である。特定の実施形態において、単独のシングルガイド核酸（ターゲッター及びモジュレーター核酸が、単一のポリヌクレオチドの一部である）として又は同種のモジュレーター核酸と組み合わせて使用される別個のターゲッター核酸を含むデュアルｇＮＡとしてのガイド核酸は、ＣａｓヌクレアーゼＣを活性化することが可能である。特定のＣａｓヌクレアーゼＣを活性

化することが可能なｇＮＡは、Ｃａｓヌクレアーゼと「適合性」であるといわれ；特定のｇＮＡによって活性化されることが可能なＣａｓヌクレアーゼは、ｇＮＡと「適合性」であるといわれる。

【０１２９】

本明細書において同義的に使用される「ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質」、「Ｃａｓタンパク質」、及び「Ｃａｓ」という用語は、天然Ｃａｓタンパク質又は操作されたＣａｓタンパク質を指し得る。Ｃａｓタンパク質操作の非限定的な例としては、限定はされないが、Ｃａｓの活性を改変する、ＰＡＭ特異性を改変する、認識されるＰＡＭの範囲を拡大する、及び／又は対応する非修飾Ｃａｓと比較して１つ以上のオフターゲット遺伝子座を修飾する能力を低下させる、Ｃａｓタンパク質の突然変異及び修飾が挙げられる。特定の実施形態において、操作されたＣａｓの改変された活性は、天然ｇＮＡ、例えば、ｇＲＮＡ若しくは操作されたｇＮＡ、例えば、ｇＲＮＡに結合する改変された能力（例えば、特異性又は反応速度）、標的ヌクレオチド配列に結合する改変された能力（例えば、特異性又は反応速度）、核酸走査の改変された処理性、及び／又は改変されたエフェクター（例えば、ヌクレアーゼ）活性を含む。ヌクレアーゼ活性を有するＣａｓタンパク質は、本明細書において同義的に使用されるように、「ＣＲＩＳＰＲ関連ヌクレアーゼ」又は「Ｃａｓヌクレアーゼ」、又は単に「ヌクレアーゼ」と呼ばれ得る。

【０１３０】

特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、Ｖ－Ａ型、Ｖ－Ｃ型、又はＶ－Ｄ型Ｃａｓタンパク質である。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質である。他の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、ＩＩ型Ｃａｓタンパク質、例えば、Ｃａｓ９タンパク質である。

【０１３１】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓヌクレアーゼは、Ｃｐｆ１を含む。Ｃｐｆ１タンパク質は、当該技術分野において公知であり、例えば、米国特許第９，７９０，４９０号明細書及び同第１０，１１３，１７９号明細書に記載されている。Ｃｐｆ１オルソログは、様々な細菌及び古細菌ゲノムに見られる。例えば、特定の実施形態において、Ｃｐｆ１タンパク質は、フランシセラ・ノビシダ（Ｆｒａｎｃｉｓｅｌｌａ ｎｏｖｉｃｉｄａ）Ｕ１１２（Ｆｎ）、アシダミノコッカス属（Ａｃｉｄａｍｉｎｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．）ＢＶ３Ｌ６（Ａｓ）、ラクノスピラセアエ・バクテリウム（Ｌａｃｈｎｏｓｐｉｒａｃｅａｅ ｂａｃｔｅｒｉｕｍ）ＮＤ２００６（Ｌｂ）、ラクノスピラセアエ・バクテリウム（Ｌａｃｈｎｏｓｐｉｒａｃｅａｅ ｂａｃｔｅｒｉｕｍ）ＭＡ２０２０（Ｌｂ２）、カンジダツス・メタノプラズマ・テルミツム（Ｃａｎｄｉｄａｔｕｓ Ｍｅｔｈａｎｏｐｌａｓｍａ ｔｅｒｍｉｔｕｍ）（ＣＭｔ）、モラクセラ・ボーボクリ（Ｍｏｒａｘｅｌｌａ ｂｏｖｏｃｕｌｉ）２３７（Ｍｂ）、ポルフィロモナス・クレビオリカニス（Ｐｏｒｐｈｙｒｏｍｏｎａｓ ｃｒｅｖｉｏｒｉｃａｎｉｓ）（Ｐｃ）、プレボテラ・ディシエンス（Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａ ｄｉｓｉｅｎｓ）（Ｐｄ）、野兎病菌（Ｆｒａｎｃｉｓｅｌｌａ ｔｕｌａｒｅｎｓｉｓ）１、野兎病菌亜種ノビシダ（Ｆｒａｎｃｉｓｅｌｌａ ｔｕｌａｒｅｎｓｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｎｏｖｉｃｉｄａ）、プレボテラ・アルベンシス（Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａ ａｌｂｅｎｓｉｓ）、ラクノスピラセアエ・バクテリウム（Ｌａｃｈｎｏｓｐｉｒａｃｅａｅ ｂａｃｔｅｒｉｕｍ）ＭＣ２０１７ １、ブチリビブリオ・プロテオクラスティカス（Ｂｕｔｙｒｉｖｉｂｒｉｏ ｐｒｏｔｅｏｃｌａｓｔｉｃｕｓ）、ペレグリニバクテリア・バクテリウム（Ｐｅｒｅｇｒｉｎｉｂａｃｔｅｒｉａ ｂａｃｔｅｒｉｕｍ）ＧＷ２０１１＿ＧＷＡ２＿３３＿１０、パークバクテリア・バクテリウム（Ｐａｒｃｕｂａｃｔｅｒｉａ ｂａｃｔｅｒｉｕｍ）ＧＷ２０１１＿ＧＷＣ２＿４４＿１７、スミセラ属（Ｓｍｉｔｈｅｌｌａ ｓｐ．）ＳＣＡＤＣ、ユウバクテリウム・エリゲンス（Ｅｕｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｅｌｉｇｅｎｓ）、レプトスピラ・イナダイ（Ｌｅｐｔｏｓｐｉｒａ ｉｎａｄａｉ）、ポルフィロモナス・マカカエ（Ｐｏｒｐｈｙｒｏｍｏｎａｓ ｍａｃａｃａｅ）、プレボテラ・ブリアンティイ（Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａ ｂｒｙａｎｔｉｉ）、プロテオカテラ・スフェニスカス（Ｐｒｏｔｅｏｃａｔｅｌｌａ

ｓｐｈｅｎｉｓｃｉ）、アネロビブリオ属（Ａｎａｅｒｏｖｉｂｒｉｏ　ｓｐ．）ＲＭ５０、モラクセラ・カプラエ（Ｍｏｒａｘｅｌｌａ　ｃａｐｒａｅ）、ラクノスピラセアエ・バクテリウム（Ｌａｃｈｎｏｓｐｉｒａｃｅａｅ　ｂａｃｔｅｒｉｕｍ）ＣＯＥ１、又はユウバクテリウム・コプロスタノリ（Ｅｕｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｃｏｐｒｏｓｔａｎｏｌｉ）遺伝子に由来する。

【０１３２】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ＣａｓヌクレアーゼはＡｓＣｐｆ１又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号３に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号３に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１３３】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ＣａｓヌクレアーゼはＬｂＣｐｆ１又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１１５８９１８号パンフレットの配列番号４に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号４に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１３４】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ＣａｓヌクレアーゼはＦｎＣｐｆ１又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１１５８９１８号パンフレットの配列番号５に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号５に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１３５】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓヌクレアーゼはプレボテラ・ブリアンティイ（Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａ　ｂｒｙａｎｔｉｉ）Ｃｐｆ１（ＰｂＣｐｆ１）又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号６に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号６に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１３６】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓヌクレアーゼはプロテオカテラ・スフェニスカス（Ｐｒｏｔｅｏｃａｔｅｌｌａ　ｓｐｈｅｎｉｓｃｉ）Ｃｐｆ１（ＰｓＣｐｆ１）又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１１５８９１８号パンフレットの配列番号７に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ

型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号７に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１３７】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓヌクレアーゼはアネロビブリオ属（Ａｎａｅｒｏｖｉｂｒｉｏ ｓｐ．）ＲＭ５０ Ｃｐｆ１（Ａｓ２Ｃｐｆ１）又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１１５８９１８号パンフレットの配列番号８に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号８に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１３８】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓヌクレアーゼはモラクセラ・カプラエ（Ｍｏｒａｘｅｌｌａ ｃａｐｒａｅ）Ｃｐｆ１（ＭｃＣｐｆ１）又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号９に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号９に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１３９】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓヌクレアーゼはラクノスピラセアエ・バクテリウム（Ｌａｃｈｎｏｓｐｉｒａｃｅａｅ ｂａｃｔｅｒｉｕｍ）ＣＯＥ１ Ｃｐｆ１（Ｌｂ３Ｃｐｆ１）又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１１５８９１８号パンフレットの配列番号１０に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号１０に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１４０】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓヌクレアーゼはユウバクテリウム・コプロスタノリ（Ｅｕｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｃｏｐｒｏｓｔａｎｏｌｉ）遺伝子Ｃｐｆ１（ＥｃＣｐｆ１）又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１１５８９１８号パンフレットの配列番号１１に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号１１に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１４１】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ＣａｓヌクレアーゼはＣｐｆ１でない。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ＣａｓヌクレアーゼはＡｓＣｐｆ１でない。

【０１４２】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ＣａｓヌクレアーゼはＭＡＤ１、ＭＡＤ２、ＭＡＤ３、ＭＡＤ４、ＭＡＤ５、ＭＡＤ６、ＭＡＤ７、ＭＡＤ８、ＭＡＤ９、ＭＡＤ１０、ＭＡＤ１１、ＭＡＤ１２、ＭＡＤ１３、ＭＡＤ１４、ＭＡＤ１５、ＭＡＤ１６、ＭＡＤ１７、ＭＡＤ１８、ＭＡＤ１９、若しくはＭＡＤ２０、又はそれらの変異体を含む。ＭＡＤ１

－ＭＡＤ２０は、当該技術分野において公知であり、米国特許第９，９８２，２７９号明細書に記載されている。

【０１４３】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ＣａｓヌクレアーゼはＭＡＤ７又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、配列番号３７に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、配列番号３７に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１４４】

ＭＡＤ７（配列番号３７）

【化１】

MNNGTNNFQNFIGISSLQKTLRNALIPTETTQQFIVKNGIIKEDELRGENRQILKDIMDDYYRGF
ISETLSSIDDIDWTSLFEKMEIQLKNGDNKDTLIKEQTEYRKAIHKKFANDDRFKNMFSAKLISD
ILPEFVIHNNNYSASEKEEKTQVIKLFSRFATSFKDYFKNRANCFSADDISSSSCHRIVNDNAEI
FFSNALVYRRIVKSLSNDDINKISGDMKDSLKEMSLEEIYSYEKYGEFITQEGISFYNDICGKVN
SFMNLYCQKNKENKNLYKLQKLHKQILCIADTSYEVPYKFESDEEVYQSVNGFLDNISSKHIVER
LRKIGDNYNGYNLDKIYIVSKFYESVSQKTYRDWETINTALEIHYNNILPGNGKSKADKVKKAVK
NDLQKSITEINELVSNYKLCSDDNIKAETYIHEISHILNNFEAQELKYNPEIHLVESELKASELK
NVLDVIMNAFHWCSVFMTEELVDKDNNFYAELEEIYDEIYPVISLYNLVRNYVTQKPYSTKKIKL
NFGIPTLADGWSKSKEYSNNAIILMRDNLYYLGIFNAKNKPDKKIIEGNTSENKGDYKKMIYNLL
PGPNKMIPKVFLSSKTGVETYKPSAYILEGYKQNKHIKSSKDFDITFCHDLIDYFKNCIAIHPEW
KNFGFDFSDTSTYEDISGFYREVELQGYKIDWTYISEKDIDLLQEKGQLYLFQIYNKDFSKKSTG
NDNLHTMYLKNLFSEENLKDIVLKLNGEAEIFFRKSSIKNPIIHKKGSILVNRTYEAEEKDQFGN
IQIVRKNIPENIYQELYKYFNDKSDKELSDEAAKLKNVVGHHEAATNIVKDYRYTYDKYFLHMPI
TINFKANKTGFINDRILQYIAKEKDLHVIGIDRGERNLIYVSVIDTCGNIVEQKSFNIVNGYDYQ
IKLKQQEGARQIARKEWKEIGKIKEIKEGYLSLVIHEISKMVIKYNAIIAMEDLSYGFKKGRFKV
ERQVYQKFETMLINKLNYLVFKDISITENGGLLKGYQLTYIPDKLKNVGHQCGCIFYVPAAYTSK
IDPTTGFVNIFKFKDLTVDAKREFIKKFDSIRYDSEKNLFCFTFDYNNFITQNTVMSKSSWSVYT
YGVRIKRRFVNGRFSNESDTIDITKDMEKTLEMTDINWRDGHDLRQDIIDYEIVQHIFEIFRLTV
QMRNSLSELEDRDYDRLISPVLNENNIFYDSAKAGDALPKDADANGAYCIALKGLYEIKQITENW
KEDGKFSRDKLKISNKDWFDFIQNKRYL

【０１４５】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ＣａｓヌクレアーゼはＭＡＤ２又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、配列番号３８に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、配列番号３８に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１４６】

ＭＡＤ２（配列番号３８）

【化２】

MSSLTKFTNKYSKQLTIKNELIPVGKTLENIKENGLIDGDEQLNENYQKAKIIVDDFLRDFINKA
LNNTQIGNWRELADALNKEDEDNIEKLQDKIRGIIVSKFETFDLFSSYSIKKDEKIIDDDNDVEE
EELDLGKKTSSFKYIFKKNLFKLVLPSYLKTTNQDKLKIISSFDNFSTYFRGFFENRKNIFTKKP
ISTSIAYRIVHDNFPKFLDNIRCFNVWQTECPQLIVKADNYLKSKNVIAKDKSLANYFTVGAYDY
FLSQNGIDFYNNIIGGLPAFAGHEKIQGLNEFINQECQKDSELKSKLKNRHAFKMAVLFKQILSD
REKSFVIDEFESDAQVIDAVKNFYAEQCKDNNVIFNLLNLIKNIAFLSDDELDGIFIEGKYLSSV
SQKLYSDWSKLRNDIEDSANSKQGNKELAKKIKTNKGDVEKAISKYEFSLSELNSIVHDNTKFSD
LLSCTLHKVASEKLVKVNEGDWPKHLKNNEEKQKIKEPLDALLEIYNTLLIFNCKSFNKNGNFYV
DYDRCINELSSVVYLYNKTRNYCTKKPYNTDKFKLNFNSPQLGEGFSKSKENDCLTLLFKKDDNY
YVGIIRKGAKINFDDTQAIADNTDNCIFKMNYFLLKDAKKFIPKCSIQLKEVKAHFKKSEDDYIL
SDKEKFASPLVIKKSTFLLATAHVKGKKGNIKKFQKEYSKENPTEYRNSLNEWIAFCKEFLKTYK
AATIFDITTLKKAEEYADIVEFYKDVDNLCYKLEFCPIKTSFIENLIDNGDLYLFRINNKDFSSK
STGTKNLHTLYLQAIFDERNLNNPTIMLNGGAELFYRKESIEQKNRITHKAGSILVNKVCKDGTS
LDDKIRNEIYQYENKFIDTLSDEAKKVLPNVIKKEATHDITKDKRFTSDKFFFHCPLTINYKEGD
TKQFNNEVLSFLRGNPDINIIGIDRGERNLIYVTVINQKGEILDSVSFNTVTNKSSKIEQTVDYE
EKLAVREKERIEAKRSWDSISKIATLKEGYLSAIVHEICLLMIKHNAIVVLENLNAGFKRIRGGL
SEKSVYQKFEKMLINKLNYFVSKKESDWNKPSGLLNGLQLSDQFESFEKLGIQSGFIFYVPAAYT
SKIDPTTGFANVLNLSKVRNVDAIKSFFSNFNEISYSKKEALFKFSFDLDSLSKKGFSSFVKFSK
SKWNVYTFGERIIKPKNKQGYREDKRINLTFEMKKLLNEYKVSFDLENNLIPNLTSANLKDTFWK
ELFFIFKTTLQLRNSVTNGKEDVLISPVKNAKGEFFVSGTHNKTLPQDCDANGAYHIALKGLMIL
ERNNLVREEKDTKKIMAISNVDWFEYVQKRRGVL

【０１４７】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓヌクレアーゼは、Ｃｓｍ１を含む。Ｃｓｍ１タンパク質は、当該技術分野において公知であり、米国特許第９，８９６，６９６号明細書に記載されている。Ｃｓｍ１オルソログは、様々な細菌及び古細菌ゲノムに見られる。例えば、特定の実施形態において、Ｃｓｍ１タンパク質は、スミテラ属（Ｓｍｉｔｈｅｌｌａ　ｓｐ．）ＳＣＡＤＣ（Ｓｍ）、スルフリクルブム属（Ｓｕｌｆｕｒｉｃｕｒｖｕｍ　ｓｐ．）（Ｓｓ）、又はマイクロジェノメイト（ロイズマンバクテリア）バクテリウム（Ｍｉｃｒｏｇｅｎｏｍａｔｅｓ（Ｒｏｉｚｍａｎｂａｃｔｅｒｉａ）ｂａｃｔｅｒｉｕｍ）（Ｍｂ）に由来する。

【０１４８】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓヌクレアーゼは、ＳｍＣｓｍ１又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号１２に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号１２に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１４９】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ＣａｓヌクレアーゼはＳｓＣｓｍ１又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号１３に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号１３に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１５０】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ＣａｓヌクレアーゼはＭｂＣｓｍ１又はその変異体を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号１４に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１５８９１８号パンフレットの配列番号１４に記載されるアミノ酸配列を含む。

【０１５１】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ＣａｓヌクレアーゼはＡＲＴヌクレアーゼ又はその変異体を含む。一般に、このようなヌクレアーゼ配列は、Ｃａｓ１２ａとの＜６０％のＡＡ配列類似性、陽性対照ヌクレアーゼとの＜６０％のＡＡ配列類似性、及び＞８０％のクエリカバー率を有する。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型ヌクレアーゼは、ＡＲＴ１、ＡＲＴ２、ＡＲＴ３、ＡＲＴ４、ＡＲＴ５、ＡＲＴ６、ＡＲＴ７、ＡＲＴ８、ＡＲＴ９、ＡＲＴ１０、ＡＲＴ１１、ＡＲＴ１２、ＡＲＴ１３、ＡＲＴ１４、ＡＲＴ１５、ＡＲＴ１６、ＡＲＴ１７、ＡＲＴ１８、ＡＲＴ１９、ＡＲＴ２０、ＡＲＴ２１、ＡＲＴ２２、ＡＲＴ２３、ＡＲＴ２４、ＡＲＴ２５、ＡＲＴ２６、ＡＲＴ２７、ＡＲＴ２８、ＡＲＴ２８、ＡＲＴ３０、ＡＲＴ３１、ＡＲＴ３２、ＡＲＴ３３、ＡＲＴ３４、ＡＲＴ３５、又はＡＲＴ１１＊（すなわち、ＡＲＴ１１＿Ｌ６７９Ｆ、すなわち、ＡＲＴ１１を含み、ここで、アミノ酸位置６７９におけるロイシン（Ｌ）が、表３に示されるように、フェニルアラニン（Ｆ））ヌクレアーゼで置換される。特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質は、表３に示されるように、個々のＡＲＴヌクレアーゼについて指定されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、配列番号１～３６によって表されるアミノ酸配列との少なくとも８５％の同一性を有する核酸誘導型ヌクレアーゼポリペプチド又は配列番号１～３６によって表されるポリヌクレオチドとの少なくとも８５％の同一性を含む核酸誘導型ヌクレアーゼポリペプチドをコードする核酸を含む核酸誘導型ヌクレアーゼが提供される。特定の実施形態において、配列番号１～３６によって表されるアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有するポリペプチドを含む核酸誘導型ヌクレアーゼが提供され、ここで、ポリペプチドは、ＹＬＦＱＩＹＮＫＤＦ（配列番号３９）のペプチドモチーフを含有しない。特定の実施形態において、配列番号８０８～８４５によって表される核酸との少なくとも９０％の同一性を有するポリペプチドをコードする核酸を含む核酸誘導型ヌクレアーゼが提供され、ここで、コードされたポリペプチドは、ＹＬＦＱＩＹＮＫＤＦ（配列番号３９）のペプチドモチーフを含有しない。特定の実施形態において、ポリペプチドが、配列番号１～９によって表されるアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を含む核酸誘導型ヌクレアーゼが提供される。特定の実施形態において、ポリペプチドが、配列番号２、１１、又は３６によって表されるアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を含むポリペプチドを含む核酸誘導型ヌクレアーゼが提供される。

【０１５２】

【表６７】

表3: ARTヌクレアーゼ

名称	配列番号	アミノ酸配列
ART1	1	METFSGFTNLYPLSKTLRFRLIPVGETLKHFIDSGILEEDQHRAESYVK VKAIIDDYHRAYIENSLSGFELPLESTKFNSLEEYYLYHNIRNKTEEIQ NLSSKVRTNLRKQVVAQLTKNEIFKRIDKKELIQSDLIDFVKNEPDANE KIALISEFRNFTVYFKGFHENRRNMYSDEEKSTSIAFRLIHENLPKFID NMEVFAKIQNTSISENFDAIQKELCPELVTLCEMFKLGYFNKTLSQKQI DAYNTVIGGKTTSEGKKIKGLNEYINLYNQQHKQEKLPKMKLLFKQILS DRESASWLPEKFENDSQVVGAIVNFWNTIHDTVLAEGGLKTIIASLGSY GLEGIFLKNDLQLTDISQKATGSWGKISSEIKQKIEVMNPQKKKESYET YQERIDKIFKSYKSFSLAFINECLRGEYKIEDYFLKLGAVNSSSLQKEN HFSHILNTYTDVKEVIGLYSESTDTKLIQDNDSIQKIKQFLDAVKDLQA YVKPLLGNGDETGKDERFYGDLIEYWSLLDLITPLYNMVRNYVTQKPYS VDKIKINFQNPTLLNGWDLNKETDNTSVILRRDGKYYLAIMNNKSRKVF LKYPSGTDRNCYEKMEYKLLPGANKMLPKVFFSKSRINEFMPNERLLSN YEKGTHKKSGTCFSLDDCHTLIDFFKKSLDKHEDWKNFGFKFSDTSTYE DMSGFYKEVENQGYKLSFKPIDATYVDQLVDEGKIFLFQIYNKDFSEHS KGTPNMHTLYWKMLFDETNLGDVVYKLNGEAEVFFRKASINVSHPTHPA NIPIKKKNLKHKDEERILKYDLIKDKRYTVDQFQFHVPITMNFKADGNG NINQKAIDYLRSASDTHIIGIDRGERNLLYLVVIDGNGKICEQFSLNEI EVEYNGEKYSTNYHDLLNVKENERKQARQSWQSIANIKDLKEGYLSQVI HKISELMVKYNAIVVLEDLNAGFMRGRQKVEKQVYQKFEKKLIEKLNYL VFKKQSSDLPGGLMHAYQLANKFESFNTLGKQSGFLFYIPAWNTSKMDP VTGFVNLFDVKYESVDKAKSFFSKFDSIRYNVERDMFEWKFNYGEFTKK AEGTKTDWTVCSYGNRIITFRNPDKNSQWDNKEINLTENIKLLFERFGI DLSSNLKDEIMQRTEKEFFIELISLFKLVLQMRNSWTGTDIDYLVSPVC NENGEFFDSRNVDETLPQNADANGAYNIARKGMILLDKIKKSNGEKKLA LSITNRE WLSFAQGCCKNG
ART2	2	MLSNFTNQYQLSKTLRFELKPVGDTLKHIEKSGLIAQDEIRSQEYQEVK TIIDKYHKAFIDEALQNVVLSNLEEYEALFFERNRDEKAFEKLQAVLRK EIVAHFKQHPQYKTLFKKELIKADLKNWQELSDAEKELVSHFDNFTTYF TGFHENRANMYTDEAKHSSIAYRIIHENLPIFLTNKKLFETIKQKAPHL AQETQDALLEYLSGAIVEDMFELSYFNHLLSQTHIDLYNQMIGGVKQDS LKIQGLNEKINLYRQANGLSKRELPNLKPLHKQILSDRETLSWLPESFE

【０１５３】

【表６８】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		SDEELMQGVQAYFESEVLAFECCDGKVNLLEKLPELLHQTQDYDFSKVY FKNDLALTAASQAIFKDYRIIKEALWEVNKPKKSKDLVADEEKFFNKKN SYFSIEQIDGALNSAQLSANMMHYFQSESTKVIEQIQLTYNDWKRNSSN KELLKAFLDALLSYQRLLKPLNAPNDLEKDVAFYAYFDAYFTSLCGVVK LYDKVRNFMTKKPYSLEKFKLNFENSTLLDGWDVNKESDNTAILFRKEG LYYLGIMNKKYNKVFRNISSSQDEGYQKIDYKLLPGANKMLPKVFFSDK NKEYFKPNAKLLERYKAGEHKKGDNFDLDFCHELIDFFKTSIEKHQDWK HFAYQFSPTESYEDLSGFYREVEQQGYKISYKNIAASFIDTLVAEGKLY FFQIYNKDFSPYSKGTPNMMHTLYWRALFDEKNLADVIYKLNGQAEIFFR KKSIEYSQEKLQKGHHHEMLKDKFAYPIIKDRRFAFDKFQFHVPITLNF KAEGNENITPKTFEYIRSNPDNIKVIGIDRGERHLLYLSLIDAEGKIVE QFTLNQIINSYNGKDHVIDYHAKLDAKEKDRDKARKEWGTVENIKELKE GYLSHVIHKIATLIIEHGAVVAMEDLNFGFKRGRFKVEKQVYQKFEKAL IDKLNYLVDKKKEPHKLGGLLNALQLTSKFQSFEKMGKQNGFLFYVPAW NTSKIDPVTGFVNLFDTRYASVEKSKAFFTKFQSICYNEAKDYFELVFD YNDFTEKAKETRSEWTLCTYGERIVSFRNAEKNHQWDSKTIHLTTEFKN LFGELHGNDVKEYILEQNSVEFFKSLIYLLKITLQMRNSITGTDIDYLV SPVADEAGNFYDSRKADTSLPKDADANGAYNIARKGLMLMHRIQNAEDL KKVNLAISNRDWLRNAQGLDK
ART3	3	MIDLKQFIGIYPVSKTLRFELRPVGKTQEWIEKNRVLEGDEQKAADYPV VKKLIDDYHKVCIHDSLNHVHFDWEPLKDAIEIFQKTKSDEAKKRLEAE QAMMRKKIAAAIKDFKHFKELTAATPSDLITSVLPEFSDDGSLKSFRGF ATYFSGFQENRNNIYSQEAISTGVPYRLVHDNFPKFLSDLEVFERIKST CPEVINQASAELQPFLEGVMIDDIFSLDFYNSLLTQNGIDFFNQVIGGV SEKDKQKYRGINEFSNLYRQQHKEIAASKKAMTMIPLFKQILSDRDTLS YIPAQIRTEDELVSSITQFYDHITHFEHDGKTINVLSEIVALLGKLDTY DPNGICITARKLTDISQKVYGKWSVIEEKMKEKAIQQYGDISVAKNKKK VDAFLSRKAYSLSDLCFDEEISFSRYYSELPQTLNAISGYWLQFNEWCK SDEKQKFLNNQTGTEVVKSLLDAMMELFHKCSVLVMPEEYEVDKSFYNE FLPLYEELDTLFLLYNKVRNYLTQKPSDVKKFKLNFESPSLASGWDQNK EMKNNAILLFKDGKSYLGVLNAKNKAKIKDAKGDVSSSSYKKMIYKLLS DPSKDLPHKIFAKGNLDFYKPSEYILEGRELGKYKKGPNFDKKFLHDFI DFYKAAISIDPDWSKFNFQYSPTESYDDIGMFFSEIKKQAYKIRFTDIS

【０１５４】

【表６９】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		EAQVNEWVDNGQLYLFQLYNKDYAEGAHGRKNLHTLYWENLFTDENLSN LVLKLNGQAELFCRPQSIKKPVSHKIGSKMLNRRDKSGMPIPESIYRSL YQYYNGKKKESELTVAEKQYIDQVIVKDVTHEIIKDRRYTRQEYFFHVP LTFNANADGNEYINEHVLNYLKDNPDVNIIGIDRGERHLIYLTLINQRG EILKQKTFNVVNSYNYQAKLEQREKERDEARKSWDSVGKIKDLKEGFLS AVIHEITNMMIENNAIVVLEDLNFGFKRGRFKVERQVYQKFEKMLIDKL NYLSFKDREAGEEGGILRGYQMAQKFISFQRLGKQSGFLFYIPAAYTSK IDPVSGFVNHFNFSDITNAEKRKDFLMKMDRIEMKNGNIEFTFDYRKFK TFQTDYQNVWTVSTFGKRIVMRIDEKGYKKMVDYEPTNDIIKAFKNKGI LLSEGSDLKALIAEIEANATNAGFYSTLLYAFQKTLQMRNSNAVTEEDY ILSPVAKDGHQFCSTDEANKGKDAQGNWVSKLPVDADANGAYHIALKGL YLLRNPETKKIENEKWLQFMVEKPYLE
ART4	4	MSYNREKMEEKELGKNQNFQEFIGVSPLQKTLRNELIPTETTKKNIAQL DLLTEDEVRAQNREKLKEMMDDYYRDVIDSTLRGELLIDWSYLFSCMRN HLSENSKESKRELERTQDSVRSQIHDKFAERADFKDMFGASIITKLLPT YIKQNSKYSERYDESVKIMKLYGKFTTSLTDYFETRKNIFSKEKISSAV GYRIVEENAEIFLQNQNAYDRICKIAGLDLHGLDNEITAYVDGKTLKEV CSDEGFAKVITQGGIDRYNEAIGAVNQYMNLLCQKNKALKPGQFKMKRL HKQILCKGTTSFDIPKKFENDKQVYDAVNSFTEIVTKNNDLKRLLNITQ NANDYDMNKIYVVADAYSMISQFISKKWNLIEECLLDYYSDNLPGKGNA KENKVKKAVKEETYRSVSQLNEVIEKYYVEKTGQSVWKVESYISSLAEM IKLELCHEIDNDEKHNLIEDDEKISEIKELLDMYMDVFHIIKVFRVNEV LNFDETFYSEMDEIYQDMQEIVPLYNHVRNYVTQKPYKQEKYRLYFHTP TLANGWSKSKEYDNNAIILVREDKYYLGILNAKKKPSKEIMAGKEDCSE HAYAKMNYYLLPGANKMLPKVFLSKKGIQDYHPSSYIVEGYNEKKHIKG SKNFDIRFCRDLIDYFKECIKKHPDWNKFNFEFSATETYEDISVFYREV EKQGYRVEWTYINSEDIQKLEEDGQLFLFQIYNKDFAVGSTGKPNLHTL YLKNLFSEENLRDIVLKLNGEAEIFFRKSSVQKPVIHKCGSILVNRTYE ITESGTTRVQSIPESEYMELYRYFNSEKQIELSDEAKKYLDKVQCNKAK TDIVKDYRYTMDKFFIHLPITINFKVDKGNNVNAIAQQYIAEQEDLHVI GIDRGERNLIYVSVIDMYGRILEQKSFNLVEQVSSQGTKRYYDYKEKLQ NREEERDKARKSWKTIGKIKELKEGYLSSVIHEIAQMVVKYNAIIAMED LNYGFKRGRFKVERQVYQKFETMLISKLNYLADKSQAVDEPGGILRGYQ

【０１５５】

【表７０】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		MTYVPDNIKNVGRQCGIIFYVPAAYTSKIDPTTGFINAFKRDVVSTNDA KENFLMKFDSIQYDIEKGLFKFSFDYKNFATHKLTLAKTKWDVYTNGTR IQNMKVEGHWLSMEVELTTKMKELLDDSHIPYEEGQNILDDLREMKDIT TIVNGILEIFWLTVQLRNSRIDNPDYDRIISPVLNNDGEFFDSDEYNSY IDAQKAPLPIDADANGAFCIALKGMYTANQIKENWVEGEKLPADCLKIE HASWLAFMQGERG
ART5	5	MSAVFKIKESTMKDFTHQYSLSKTLRFELKPVGETAERIEDFKNQGLKS IVEEDRQRAEDYKKMKRILDDYHKEFIEEVLNDDIFTANEMESAFEVYR KYMASKNDDKLKKEITEIFTDLRKKIAKAFENKSKEYCLYKGDFSKLIN EKKTGKDKGPGKLWYWLKAKADAGVNEFGDGQTFEQAEEALAKFNNFST YFTGFNQNRDNIYTDAEQQTAISYRVINENMTRYFDNCIRYSSIENKYP ELVKQLEPLSGKFAPGNYKDYLSQTAIDIYNEAVGHKSDDINAKGINQF INEYRQRNSIKGRELPIMSVLYKQILSDINKDLIIDKFENAGELLDAVK TLHRELTDKKILLKIKQTLNEFLTEDNSEDIYIKSGTDLTAVSNAIWGE WSVIPKALEMYAENITDMNAKAREKWLKREAYHLKTVQEAIEAYLKDNE EFETRNISEYFTNFKSGENDLIQVVQSAYAKMESIFGIEDFHKDRRPVT ESGEPGEGFRQVELVREYLDSLINVEHFIKPLHMFRSGKPIELEDCNSN FYDPLNEAYKELDVVFGIYNKVRNYVTQKPYSKDKFKINFQNSTLLDGW DVNKESANSSVLLLKNGKYYLGVMKQGASNILNYRPEPSDSKNKINAKK QLSEIALAGATDDYYEKMIYKLLPDPAKMLPKVFFSAKNIEFYNPSQEI IYIRENGLFKKDAGDKESLKKWIGFMKTSLLKHPEWGSYFNFEFEPAED YQDISIFYKQVAEQGYSVTFDKIKTSYIEEKVASGELYLFEIYNKDFSP HSKGRPNLHTMYWKSLFEKENLQNLVTKLNGEAEVFFRQHSIKRNEKVV HRANRPIQNKNPLTEKKQSIFEYDLVKDRRFTKDKFFLHCPITLNFKEA GPGRFNDKVNKYIAGNPDIRIIGIDRGERHLLYYSLIDQSGRIVEQGTL NQITSTLNSGGREIPKTTDYRGLLDTKEKERDKARKSWSMIENIKELKS GYLSHIVHKLAKLMVKNNAVVVLEDLNFGFKRGRFKVEKQVYQKFEKAL IEKLNYLVFKDARPAEPGHYLNAYQLTAPLESFKKLGKQSGFIYYVPAW NTSKIDPVTGFVNQFYIEKNSMQYLKNFFGKFDSIRFNPDKNYFEFGFD YKNFHNKAAKSKWTICTHGDKRSWYNRKQRKLEIHNVTENLASLLSGKG INFADGGSIKDKILSVDDASFFKSLAFNFKLTAQLRHTFEDNGEEIDCI ISPVAAADGTFFCSETAKKLNMELPHDADANGAYNIARKGLMVLRQIRE SGKPKPISNADWLDFAQQNED

【０１５６】

【表７１】

名称	配列番号	アミノ酸配列
ART6	6	MQERKKISHLTHRNSVQKTIRMQLNPVGKTMDYFQAKQILENDEKLKEN YQKIKEIADRFYRNLNEDVLSKTGLDKLKDYAEIYYHCNTDAERKRLDE CASELRKEIVKNFKNRDEYNKLFNKKMIEIVLPQHLKNEDEKEVVASFK NFTTYFTGFFTNRKNMYSDGEESTAIAYRCINENLPKHLDNVKAFEKAI SKLSKNAIDDLDATYSGLCGTNLYDVFTVDYFNFLLPQSGITEYNKIIG GYTTSDGTKVKGINEYINLYNQQVSKRDKIPNLKILYKQILSESEKVSF IPPKFEDDNELLSAVSEFYANDETFDGMPLKKAIDETKLLFGNLDNSSL NGIYIQNDRSVTNLSNSMFGSWSVIEDLWNKNYDSVNSNSRIKDIQKRE DKRKKAYKAEKKLSLSFLQVLISNSENDEIREKSIVNYYKTSLMQLTDN LSDKYNEAAPLLNKSYANEKGLKNDDKSISLIKNFLDAIKEIEKFIKPL SETNITGEKNDLFYSQFTPLLDNISRIDILYDKVRNYVTQKPFSTDKIK LNFGNSQLLNGWDRNKEKDCGAVWLCRDEKYYLAIIDKSNNSILENIDF QDCDENDCYEKIIYKLLPGPNKMLPKVFFSEKCKKLLSPSDEILKIRKN GTFKKGDKFSLDDCHKLIDFYKESFKKYPNWLIYNFKFKNTNEYNDIRE FYNDVASQGYNISKMKIPTSFIDKLVDEGKIYLFQLYNKDFSPHSKGTP NLHTLYFKMLFDERNLEDVVYKLNGEAEMFYRPASIKYDKPTHPKNTPI KNKNTLNDKKTSTFPYDLIKDKRYTKWQFSLHFPITMNFKAPDRAMIND DVRNLLKSCNNNFIIGIDRGERNLLYVSVIDSNGAIIYQHSLNIIGNKF KGKTYETNYREKLATREKERTEQRRNWKAIESIKELKEGYISQAVHVIC QLVVKYDAIIVMEKLTDGFKRGRTKFEKQVYQKFEKMLIDKLNYYVDKK LDPDEGGGLLHAYQLTNKLESFDKLGMQSGFIFYVRPDFTSKIDPVTGF VNLLYPRYENIDKAKDMISRFDDIGYNAGEDFFEFDIDYDKFPKTASDY RKRWTICTNGERIEAFRNPAKNNEWSYRTIILAEKFKELFDNNSINYRD SDDLKAEILSQTKGKFFEDFFKLLRLTLQMRNSNPETGEDRILSPVKDK NGNFYDSSKYDEKSKLPCDADANGAYNIARKGLWIVEQFKKSDNVSTVG PVIHNDKWLKFVQENDMANN
ART7	7	MNILKENYMKEIKELTGLYSLTKTIGVELKPVGKTQELIEAKKLIEQDD QRAEDYKIVKDIIDRYHKDFIDKCLNCVKIKKDDLEKYVSLAENSNRDA EDFDKIKTKMRNQITEAFRKNSLFTNLFKKNLIKEYLPAFVSEEEKSVV NKFSKFTTYFDAFNDNRKNLYSGDAKSGTIAYRLIHENLPMFLDNIASF NAISGIGVNEYFSSIETEFTDTLEGKRLTEFFQIDFFNNTLTQKKIGNY NYIVGAVNKAVNLYKQQHKTVRVPLLKPLYKMILSDRVTPSWLPERFES DEEMLTAIKAAYESLREVLVGDNDESLRNLLLNIEHYDLEHIYIANDSG

【０１５７】

【表７２】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		LTSISQKIFGCYDTYTLAIKDQLQRDYPATKKQREAPDLYDERIDKLYK KVGSFSIAYLNRLVDAKGHFTINEYYKQLGAYCREEGKEKDDFFKRIDG AYCAISHLFFGEHGEIAQSDSDVELIQKLLEAYKGLQRFIKPLLGHGDE ADKDNEFDAKLRKVWDELDIITPLYDKVRNWLSRKIYNPEKIKLCFENN GKLLSGWVDSRTKSDNGTQYGGYIFRKKNEIGEYDFYLGISADTKLFRR DAAISYDDGMYERLDYYQLKSKTLLGNSYVGDYGLDSMNLLSAFKNAAV KFQFEKEVVPKDKENVPKYLKRLKLDYAGFYQILMNDDKVVDAYKIMKQ HILATLTSSIRVPAAIELATQKELGIDELIDEIMNLPSKSFGYFPIVTA AIEEANKRENKPLFLFKMSNKDLSYAATASKGLRKGRGTENLHSMYLKA LLGMTQSVFDIGSGMVFFRHQTKGLAETTARHKANEFVANKNKLNDKKK SIFGYEIVKNKRFTVDKYLFKLSMNLNYSQPNNNKIDVNSKVREIISNG GIKNIIGIDRGERNLLYLSLIDLKGNIVMQKSLNILKDDHNAKETDYKG LLTEREGENKEARRNWKKIANIKDLKRGYLSQVVHIISKMMVEYNAIVV LEDLNPGFIRGRQKIERNVYEQFERMLIDKLNFYVDKHKGANETGGLLH ALQLTSEFKNFKKSEHQNGCLFYIPAWNTSKIDPATGFVNLFNTKYTNA VEAQEFFSKFDEIRYNEEKDWFEFEFDYDKFTQKAHGTRTKWTLCTYGM RLRSFKNSAKQYNWDSEVVALTEEFKRILGEAGIDIHENLKDAICNLEG KSQKYLEPLMQFMKLLLQLRNSKAGTDEDYILSPVADENGIFYDSRSCG DQLPENADANGAYNIARKGLMLIEQIKNAEDLNNVKFDISNKAWLNFAQ QKPYKNG
ART8	8	MAKENIFNELTGKYQLSKTLRLELKPVGNTQQMLKDEDVFEKDRIIREK YRETRPHFDRLHREFIEQALKNQKLSDLGKYFQCLAKLQNNKKDKEAQE EFKRISQNLRKEVNDLFKIDPLFGEGVFALLKEKYGEKDDAFLREQDGQ YVLDENKKKISIFDSWKGFTGYFTKFQETRKNFYKDDGTATAVATRIID QNLKRFCENIQIFKSIQKKVDFKEVEDNFSVDLEDIFSLGFYSSCFLQE GIDVYNKILGGEPKTTGEKLRGLNELINRYRQDHKGEKLPFFKMLDKQI LSEKEKFIESIEDDEELLKTLKEFYSSAEEKTTVLKELFNDFIKNNENY DLSEIYISREALNTISHRWVSAATLPEFEKSVYEVMKKDKPSGLSFDKD DNSYKFPDFIALSYIKGSFEKLSGEKLWKDGYFRDETRNGDKGFLIGNE SLWTQFIKIFEFEFNSLFEAKNTERSVGYYHFKKDFEKIITNDFSVNPE DKVIIREFADNVLAIYQMAKYFAIEKKRKWMDQYDTGDFYNHPDFGYKT KFYDNAYEKIVKARMLLQSYLTKKPFSTDKWKLNFECGYLLNGWSSSFN TYGSLLFRTGNEYYLGVVNGSALRTEKIKRLTGNITEANSCHKMVYDFQ

【０１５８】

【表７３】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		KPDNKNVPRIFIRSKGDKFAPAVSELNLPVDSILEIYDKGLFKTENKNS PFFKPSLKKLIDYFKLGFSRHASYKHYQFKWKDSSEYKNISEFYNDTIR SCYQIKWEELNFEEVKKLTNSKDLFLFQIYNKDFSEKSTGNKNLHSIYF DGLFLDNNINAQDGVILKLSGGGEIFFRPKTDVKKLGSRTDTKGKLVIK NKRYSQDKIFLHFPIELNYSNTQESNFNKLVRNFLADNPDINIIGVDRG EKHLIYYAGIDQKGNTLKDKDDKDVLGSLNEINGVNYYKLLEERAKARE KARQDWQNIQGIKDLKMGYISLVVRKLADLIIEYNAILVLEDLNMRFKQ IHGGIEKSVYQQLEKALIEKLNFLVNKGEKDPERAGHLLRAYQLTAPFS TFKDMGKQTGVLFYTQASYTSKTCPQCGFRPNIKLHFDNLENAKKMLEK INIVYKDNHFEIGYKVSDFTKTEKTSRGNILYGDRQGKDTFVISSKAAI RYKWFARNIKNNELNRGESLKEHTEKGVTIQYDITECLKILYEKNGIDH SGDITKQSIRSELPAKFYKDLLFYLYLLTNTRSSISGTEIDYINCPDCG FHSEKGFNGCIFNGDANGAYNIARKGMLILKKINQYKDQHHTMDKMGWG DLFIGIEEWDKYTQVVSRS
ART9	9	MKEIKELTGLYSLTKTIGVELKPVGKTQELIEAKKLIEQDDQRAEDYKI VKDIIDRYHKDFIDKCLNCVKIKKDDLEKYVSLAENSNRDAEDFDKIKT KMRNQITEAFRKNSLFTNLFKKNLIKEYLPAFVSEEEKSVVNKFSKFTT YFDAFNDNRKNLYSGDAKSGTIAYRLIHENLPMFLDNIASFNAISGIGV NEYFSSIETEFTDTLEGKRLTEFFQIDFFNNTLTQKKIGNYNYIVGAVN KAVNLYKQQHKTVRVPLLKPLYKMILSDRVTPSWLPERFESDEEMLTAI KAAYESLREVLVGDNDESLRNLLLNIEHYDLEHIYIANDSGLTSISQKI FGCYDTYTLAIKDQLQRDYPATKKQREAPDLYDERIDKLYKKVGSFSIA YLNRLVDAKGHFTINEYYKQLGAYCREEGKEKDDFFKRIDGAYCAISHL FFGEHGEIAQSDSDVELIQKLLEAYKGLQRFIKPLLGHGDEADKDNEFD AKLRKVWDELDIITPLYDKVRNWLSRKIYNPEKIKLCFENNGKLLSGWV DSRTKSDNGTQYGGYIFRKKNEIGEYDFYLGISADTKLFRRDAAISYDD GMYERLDYYQLKSKTLLGNSYVGDYGLDSMNLLSAFKNAAVKFQFEKEV VPKDKENVPKYLKRLKLDYAGFYQILMNDDKVVDAYKIMKQHILATLTS SIRVPAAIELATQKELGIDELIDEIMNLPSKSFGYFPIVTAAIEEANKR ENKPLFLFKMSNKDLSYAATASKGLRKGRGTENLHSMYLKALLGMTQSV FDIGSGMVFFRHQTKGLAETTARHKANEFVANKNKLNDKKKSIFGYEIV KNKRFTVDKYLFKLSMNLNYSQPNNNKIDVNSKVREIISNGGIKNIIGI DRGERNLLYLSLIDLKGNIVMQKSLNILKDDHNAKETDYKGLLTEREGE

【０１５９】

【表７４】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		NKEARRNWKKIANIKDLKRGYLSQVVHIISKMMVEYNAIVVLEDLNPGF IRGRQKIERNVYEQFERMLIDKLNFYVDKHKGANETGGLLHALQLTSEF KNFKKSEHQNGCLFYIPAWNTSKIDPATGFVNLFNTKYTNAVEAQEFFS KFDEIRYNEEKDWFEFEFDYDKFTQKAHGTRTKWTLCTYGMRLRSFKNS AKQYNWDSEVVALTEEFKRILGEAGIDIHENLKDAICNLEGKSQKYLEP LMQFMKLLLQLRNSKAGTDEDYILSPVADENGIFYDSRSCGDQLPENAD ANGAYNIARKGLMLIEQIKNAEDLNNVKFDISNKAWLNFAQQKPYKNG
ART10	10	MNFQPFFQKFVHLYPISKTLRFELIPQGATQKFISEKQVLLQDEIRARK YPEMKQAIDGYHKDFIQRALSNIDSQVFEQALNTFEDLFLRSQAERATD AYKKDFETAQTKLRELIVHSFEKGEFKQEYKSLFDKNLITNLLKPWVEQ QNQIGDSNYTYHEDFNKFTTYFLGFHENRKNIYSKDPHKTALAYRLIHE NLPKFLENNKILLKIQNDHPSLWEQLQTLNQTMPQLFDGWDFSQLMQVS FFSNTLTQTGIDQYNTIIGGISEGENRQKIQGINELINLYNQKQDKKNR VAKLKQLYKQILSDRSTLSFLPEKFVDDTELYHAINMFYLEHLHHQSMI NGHSYTLLERVQLLINELANYDLSKVYLAPNQLSTVSHQMFGDFGYIGR ALNYYYMQVIQPDYEQLLASAKTTKKIEATEKLKTIFLDTPQSLVVIQA AIDEYIQLQPSTKPHTQLTDFIISLLKQYETVADDQSIKVINVFSDIEG KYSCIKGLVNTKSESKREVLQDEKLATDIKAFMDAVNNVIKLLKPFSLN EKLVASVEKDARFYSDFEEIYQSLLIFVPLYNKVRNYITQKPYSTEKFK LNFNKPTLLSGWDANKEADNLSILLRKNGNYYLAIMDTAKGANKAFEPK TLNQLKVDDTTDCYEKMVYKLLSGPSKMFPKAFKAKNNEGNYYPTPELL TSYNNNEHLKNDKNFTLASLHAYIDWCKEYINRNPSWHQFNFKFSPTQS FQDISQFYSEVSSQSYKVHFQTIPSDYIDQLVAEGKLYLFQIYNKDFSP NAKGKENLHTLYFKALFSDENLKQPVFKLSGEAEMFYRPASLQLANTTI HKAGEPMAAKNPLTPNATRTLAYDIIKDRRFTTDKYLLHVPISLNFHAQ ESMSIKKHNDLVRQMIKHNHQDLHVIGIDRGEKHLLYVSVIDLKGNIVY QESLNSIKSEAQNFETPYHQLLQHREEGRAQARTAWGKIENIKELKDGY LSQVVHRIQQLILKYNAIVMLEDLNFGFKRGRFKIEKQIYQKFEKALIH KLNYVVDKSTQADELGGVRKAYQLTAPFESFEKLGKQSGVLFYVPAWNT SKIDPVTGFVDLLKPKYENLDKAQAFFNAFDSIHYNAQKNYFEFKVNLK QFAGLKAQAAQAEWTICSYGDERHVYQKKNAQQGETVIVNVTEELKVLF AKNNIEVAQSVELKETICTQTQVDFFKRLMWLLQVLLALRYSSSKDKLD

【０１６０】

【表７５】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		YILSPVANAQGEFFDSRHASVQLPQDSDANGAYHIALKGLWVIEQLKAA DNLDKVKLAISNDDWLHFAQQKPYLA
ART11	11	MYYQGLTKLYPISKTIRNELIPVGKTLEHIRMNNILEADIQRKSDYERV KKLMDDYHKQLINESLQDVHLSYVEEAADLYLNASKDKDIVDKFSKCQD KLRKEIVNLLKSHENFPKIGNKEIIKLLQSLSDTEKDYNALDSFSKFYT YFTSYNEVRKNLYSDEEKSSTAAYRLINENLPKFLDNIKAYSIAKSAGV RAKELTEEEQDCLFMTETFERTLTQDGIDNYNELIGKLNFAINLYNQQN NKLKGFRKVPKMKELYKQILSEREASFVDEFVDDEALLTNVESFSAHIK EFLESDSLSRFAEVLEESGGEMVYIKNDTSKTTFSNIVFGSWNVIDERL AEEYDSANSKKKKDEKYYDKRHKELKKNKSYSVEKIVSLSTETEDVIGK YIEKLQADIIAIKETREVFEKVVLKEHDKNKSLRKNTKAIEAIKSFLDT IKDFERDIKLISGSEHEMEKNLAVYAEQENILSSIRNVDSLYNMSRNYL TQKPFSTEKFKLNFNRATLLNGWDKNKETDNLGILLVKEGKYYLGIMNT KANKSFVNPPKPKTDNVYHKVNYKLLPGPNKMLPKVFFAKSNLEYYKPS EDLLAKYQAGTHKKGENFSLEDCHSLISFFKDSLEKHPDWSEFGFKFSD TKKYDDLSGFYREVEKQGYKITYTDIDVEYIDSLVEKDELYLFQIYNKD FSPYSKGNYNLHTLYLTMLFDERNLRNVVYKLNGEAEVFYRPASIGKDE LIIHKSGEEIKNKNPKRAIDKPTSTFEYDIVKDRRYTKDKFMLHIPVTM NFGVDETRRFNEVVNDAIRGDDKVRVIGIDRGERNLLYVVVVDSDGTIL EQISLNSIINNEYSIETDYHKLLDEKEGDRDRARKNWTTIENIKELKEG YLSQVVNVIAKLVLKYDAIICLEDLNFGFKRGRQKVEKQVYQKFEKMLI DKLNYLVIDKSRSQENPEEVGHVLNALQLTSKFTSFKELGKQTGIIYYV PAYLTSKIDPTTGFANLFYVKYESVEKSKDFFNRFDSICFNKVAGYFEF SFDYKNFTDRACGMRSKWKVCTNGERIIKYRNEEKNSSFDDKVIVLTEE FKKLFNEYGIAFNDCMDLTDAINAIDDASFFRKLTKLFQQTLQMRNSSA DGSRDYIISPVENDNGEFFNSEKCDKSKPKDADANGAFNIARKGLWVLE QLYNSSSGEKLNLAMTNAEWLEYAQQHTI
ART12	12	MAKNFEDFKRLYPLSKTLRFEAKPIGATLDNIVKSGLLEEDEHRAASYV KVKKLIDEYHKVFIDRVLDNGCLPLDDKGDNNSLAEYYESYVSKAQDED AIKKFKEIQQNLLSIIAKKLTDDKAYANLFGNKLIESYKDKADKTKLID SDLIQFINTAESTQLVSMSQDEAKELVKEFWGFTTYFEGFFKNRKNMYT PEEKSTGIAYRLINENLPKFIDNMEAFKKAIARPEIQANMEELYSNFSE YLNVESIQEMFLLDYYNMLLTQKQIDVYNAIIGGKTDDEHDVKIKGINE

【０１６１】

【表７６】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		YINLYNQQHKDDKLPKLKALFKQILSDRNAISWLPEEFNSDQEVLNAIK DCYERLAENVLGDKVLKSLLGSLADYSLDGIFIRNDLQLTDISQKMFGN WGVIQNAIMQNIKHVAPARKHKESEEDYEKRIAGIFKKADSFSISYIND CLNEADPNNAYFVENYFATFGAVNTPTMQRENLFALVQNAYTEVAALLH SDYPTVKHLAQDKANVSKIKALLDAIKSLQHFVKPLLGKGDESDKDERF YGELASLWAELDTVTPLYNMIRNYMTRKPYSQKKIKLNFENPQLLGGWD ANKEKDYATIILRRNGLYYLAIMDKDSRKLLGKAMPSDGECYEKMVYKF FKDVTTMIPKCSTQLKDVQAYFKVNTDDYVLNSKAFNRPLTITKEVFDL NNVLYGKYKKFQKGYLTATGDNVGYTHAVNVWIKFCMDFLDSYDSTCIY DFSSLKPESYLSLDSFYQDVNLLLYKLSFTDVSASFIDQLVEEGKMYLF QIYNKDFSEYSKGTPNMHTLYWKALFDERNLADVVYKLNGQAEMFYRKK SIENTHPTHPANHPILNKNKDNKKKESLFEYDLIKDRRYTVDKFMFHVP ITMNFKSSGSENINQDVKAYLRHADDMHIIGIDRGERHLLYLVVIDLQG NIKEQFSLNEIVNDYNGNTYHTNYHDLLDVREDERLKARQSWQTIENIK ELKEGYLSQVIHKITQLMVRYHAIVVLEDLSKGFMRSRQKVEKQVYQKF EKMLIDKLNYLVDKKTDVSTPGGLLNAYQLTCKSDSSQKLGKQSGFLFY IPAWNTSKIDPVTGFVNLLDTHSLNSKEKIKAFFSKFDAIRYNKDKKWF EFNLDYDKFGKKAEDTRTKWTLCTRGMRIDTFRNKEKNSQWDNQEVDLT TEMKSLLEHYYIDIHGNLKDAISTQTDKAFFTGLLHILKLTLQMRNSIT GTETDYLVSPVADENGIFYDSRSCGDQLPENADANGAYNIARKGLMLVE QIKDAEDLDNVKFDISNKAWLNFAQQKPYKNG
ART13	13	MAKNFEDFKRLYSLSKTLRFEAKPIGATLDNIVKSGLLDEDEHRAASYV KVKKLIDEYHKVFIDRVLDDGCLPLENKGNNNSLAEYYESYVSRAQDED AKKKFKEIQQNLRSVIAKKLTEDKAYANLFGNKLIESYKDKEDKKKIID SDLIQFINTAESTQLDSMSQDEAKELVKEFWGFVTYFYGFFDNRKNMYT AEEKSTGIAYRLVNENLPKFIDNIEAFNRAITRPEIQENMGVLYSDFSE YLNVESIQEMFQLDYYNMLLTQKQIDVYNAIIGGKTDDEHDVKIKGINE YINLYNQQHKDDKLPKLKALFKQILSDRNAISWLPEEFNSDQEVLNAIK DCYERLAENVLGDKVLKSLLGSLADYSLDGIFIRNDLQLTDISQKMFGN WGVIQNAIMQNIKRVAPARKHKESEEDYEKRIAGIFKKADSFSISYIND CLNEADPNNAYFVENYFATFGAVNTPTMQRENLFALVQNAYTEVAALLH SDYPTVKHLAQDKANVSKIKALLDAIKSLQHFVKPLLGKGDESDKDERF YGELASLWAELDTVTPLYNMIRNYMTRKPYSQKKIKLNFENPQLLGGWD

【０１６２】

【表７７】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		ANKEKDYATIILRRNGLYYLAIMDKDSRKLLGKAMPSDGECYEKMVYKF FKDVTTMIPKCSTQLKDVQAYFKVNTDDYVLNSKAFNKPLTITKEVFDL NNVLYGKYKKFQKGYLTATGDNVGYTHAVNVWIKFCMDFLNSYDSTCIY DFSSLKPESYLSLDAFYQDANLLLYKLSFARASVSYINQLVEEGKMYLF QIYNKDFSEYSKGTPNMHTLYWKALFDERNLADVVYKLNGQAEMFYRKK SIENTHPTHPANHPILNKNKDNKKKESLFDYDLIKDRRYTVDKFMFHVP ITMNFKSVGSENINQDVKAYLRHADDMHIIGIDRGERHLLYLVVIDLQG NIKEQYSLNEIVNEYNGNTYHTNYHDLLDVREEERLKARQSWQTIENIK ELKEGYLSQVIHKITQLMVRYHAIVVLEDLSKGFMRSRQKVEKQVYQKF EKMLIDKLNYLVDKKTDVSTPGGLLNAYQLTCKSDSSQKLGKQSGFLFY IPAWNTSKIDPVTGFVNLLDTHSLNSKEKIKAFFSKFDAIRYNKDKKWF EFNLDYDKFGKKAEDTRTKWTLCTRGMRIDTFRNKEKNSQWDNQEVDLT TEMKSLLEHYYIDIHGNLKDAISAQTDKAFFTGLLHILKLTLQMRNSIT GTETDYLVSPVADENGIFYDSRSCGNQLPENADANGAYNIARKGLMLIE QIKNAEDLNNVKFDISNKAWLNFAQQKPYKNG
ART14	14	MAKNFEDFKRLYSLSKTLRFEAKPIGATLDNIVKSDLLDEDEHRAASYV KVKKLIDEYHKVFIDRVLDDGCLPLENKGNNNSLAEYYESYVSRAQDED AKKKFKEIQQNLRSVIAKKLTEDKAYANLFGNKLIESYKDKEDKKKIID SDLIQFINTAESTQLDSMSQDEAKELVKEFWGFVTYFYGFFDNRKNMYT AEEKSTGIAYRLVNENLPKFIDNIEAFNRAITRPEIQENMGVLYSDFSE YLNVESIQEMFQLDYYNMLLTQKQIDVYNAIIGGKTDDEHDVKIKGIND YINLYNQKHKDDKLPKLKALFKQILSDRNAISWLPEEFNSDQEVLNAIK DCYERLSENVLGDKVLKSMLGSLADYSLDGIFIRNDLQLTDISQKMFGN WSVIQNAIMQNIKHVAPARKHKESEEEYENRIAGIFKKADSFSISYIDA CLNETDPNNAYFVENYFATLGAVDTPTMQRENLFALVQNAYTEITALLH SDYPTEKNLAQDKANVAKIKALLDAIKSLQHFVKPLLGKGDESDKDERF YGELASLWAELDTMTPLYNMIRNYMTRKPYSQKKIKLNFENPQLLGGWD ANKEKDYATIILRRNGLYYLAIMNKDSKKLLGKAMPSDGECYEKMVYKL LPGANKMLPKVFFAKSRMEDFKPSKELVEKYYNGTHKKGKNFNIQDCHN LIDYFKQSIDKHEDWSKFGFKFSDTSTYEDLSGFYREVEQQGYKLSFAR VSVSYINQLVEEGKMYLFQIYNKDFSEYSKGTPNMHTLYWKALFDERNL ADVVYKLNGQAEMFYRKKSIENTHPTHPANHPILNKNKDNKKKESLFGY DLIKDRRYTVDKFLFHVPITMNFKSSGSENINQDVKAYLRHADDMHIIG

【０１６３】

【表７８】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		IDRGERHLLYLVVIDLQGNIKEQFSLNEIVNDYNGNTYHTNYHDLLDVR EDERLKARQSWQTIENIKELKEGYLSQVIHKITQLMVKYHAIVVLEDLN MGFMRGRQKVEKQVYQKFEKMLIEKLNYLVDKKADASVSGGLLNAYQLT SKFDSFQKLGKQSGFLFYIPAWNTSKIDPVTGFVNLLDTRYQNVEKAKS FFSKFDAIRYNKDKEWFEFNLDYDKFGKKAEGTRTKWTLCTRGMRIDTF RNKEKNSQWDNQEVDLTAEMKSLLEHYYIDIHSNLKDAISAQTDKAFFT GLLHILKLTLQMRNSITGTETDYLVSPVVDENGIFYDSRSCGDELPENA DANGAYNIARKGLMMIEQIKDAKDLDNLKFDISNKAWLNFAQQKPYKNG
ART15	15	MLFQDFTHLYPLSKTVRFELKPIGRTLEHIHAKNFLSQDETMADMYQKV KVILDDYHRDFIADMMGEVKLTKLAEFYDVYLKFRKNPKDDELQKQLKD LQAVLRKESVKPIGNGGKYKAGHDRLFGAKLFKDGKELGDLAKFVIAQE GKSSPKLAHLAHFEKFSTYFTGFHDNRKNMYSDEDKHTAIAYRLIHENL PRFIDNLQILTTIKQKHSALYDQIINELTASGLDVSLASHLDGYHKLLT QEGITAYNRIIGEVNGYTNKHNQICHKSERIAKLRPLHKQILSDGMGVS FLPSKFADDSEMCQAVNEFYRHYADVFAKVQSLFDGFDDHQKDGIYVEH KNLNELSKQAFGDFALLGRVLDGYYVDVVNPEFNERFAKAKTDNAKAKL TKEKDKFIKGVHSLASLEQAIKHHTARHDDESVQAGKLGQYFKHGLAGV DNPIQKIHNNHSTIKGFLERERPAGERALPKIKSGKNPEMTQLRQLKEL LDNALNVAHFAKLLMTKTTLDNQDGNFYGEFGVLYDELAKIPTLYNKVR DYLSQKPFSTEKYKLNFGNPTLLNGWDLNKEKDNFGVILQKDGCYYLAL LDKAHKKVFDNAPNTGKNVYQKMIYKLLPGPNKMLPRVFFAKSNLDYYN PSAELLDKYAQGTHKKGDNFNLKDCHALIDFFKAGINKHPEWQNFGFKF SPTSSYRDLSDFYREVEPQGYQVKFVDINADYIDELVEQGQLYLFQIYN KDFSPKAHGKPNLHTLYFRALFSEDNLANPIYKLNGEAQIFYRKASLGM NETTIHRAGEILENKNPDNPKERVFTYDIIKDRRYTQDKFMLHVPITMN FGVQGMTIKEFNKKVNQSIRQYDDVNVIGIDRGERHLLYLTVINSKGEI LEQRSLNDITTASANGTQMTTPYHKILDKREIERLNARVGWGEIETIKE LKSGYLSHVVHQVSQLMLKYNAIVVLEDLNFGFKRGRFKVEKQIYQNFE NALIKKLNHLELKDKADDEIGSYKNALQLTNNFTDLKNIGKQTGFLFYV PAWNTSKIDPETGFVDLLKPRYENIAQSQAFFGKFDKICYNADKDYFEF HIDYAKFTDKAKNSRQTWTICSHGDKRYVYDKTANQNKGATKGINVNDE LKSLFARYHINEKQPNLVMDICQNNDKEFHKSLMYLLKTLLALRYSNAS

【０１６４】

【表７９】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		SDEDFILSPVANDEGVFFNSALADDTQPQNADANGAYHIALKGLWLLNE LKNSDDLNKVKLAIDNQTWLNFAQNR
ART16	16	MLFQDFTHLYPLSKTVRFELKPIGKTLEHIHAKNFLSQDETMADMYQKV KAILDDYHRDFITKMMSEVTLTKLPEFYEVYLALRKNPKDDTLQKQLTE IQTALREEVVKPIDSGGKYKAGYERLFGAKLFKDGKELGDLAKFVIAQE GESSPKLPQIAHFEKFSTYFTGFHDNRKNMYSSDDKHTAIAYRLIHENL PRFIDNLQILVTIKQKHSVLYDQIVNELNANGLDVSLASHLDGYHKLLT QEGITAYNRIIGEVNSYTNKHNQICHKSERIAKLRPLHKQILSDGMGVS FLPSKFADDSEMCQAVNEFYRHYAHVFAKVQSLFDRFDDYQKDGIYVEH KNLNELSKQAFGDFALLGRVLDGYYVDVVNPEFNDKFAKAKTDNAKEKL TKEKDKFIKGVHSLASLEQAIEHYIAGHDDESVQAGKLGQYFKHGLAGV DNPIQKIHNSHSTIKGFLERERPAGERTLPKIKSDKSLEMTQLRQLKEL LDNALNVVHFAKLLTTKTTLDNQDGNFYGEFGALYDELAKIATLYNKVR DYLSQKPFSTEKYKLNFGNPTLLNGWDLNKEKDNFGVILQKDGCYYLAL LDKAHKKVFDNAPNTGKSVYQKMVYKLLPGPNKMLPKVFFAKSNLDYYN PSAELLDKYAQGTHKKGDNFNLKDCHALIDFFKASINKHPEWQHFGFEF SLTSSYQDLSDFYREVEPQGYQVKFVDIDADYIDELVEQGQLYLFQIYN KDFSPKAHGKPNLHTLYFKALFSEDNLANPIYKLNGEAEIFYRKASLDM NETTIHRAGEVLENKNPDNPKERQFVYDIIKDKRYTQDKFMLHVPITMN FGVQGMTIKEFNKKVNQSIQQYDEVNVIGIDRGERHLLYLTVINSKGEI LEQRSLNDIITTSANGTQMTTPYHKILDKREIERLNARVGWGEIETIKE LKSGYLSHVVHQISQLMLKYNAIVVLEDLNFGFKRGRFKVEKQIYQNFE NALIKKLNHLVLKDKADNEIGSYKNALQLTNNFTDLKSIGKQTGFLFYV PAWNTSKIDPVTGFVDLLKPRYENIAQSQAFFDKFDKICYNADKGYFEF HIDYAKFTDKAKNSRQIWTICSHGDKRYVYDKTANQNKGATIGINVNDE LKSLFARYRINDKQPNLVMDICQNNDKEFHKSLTYLLKALLALRYSNAS SDEDFILSPVANDKGVFFNSALADDTQPQNADANGAYHIALKGLWLLNE LKNSDDLDKVKLAIDNQTWLNFAQNR
ART17	17	MLFQDFTHLYPLSKTVRFELKPIGKTLEHIHAKNFLSQDETMADMYQKV KAILDDYHRDFITKMMSEVTLTKLPEFYEVYLALRKNPKDDTLQKQLTE IQTALREEVVKPIDSGGKYKAGYERLFGAKLFKDGKELGDLAKFVIAQE GESSPKLPQIAHFEKFSTYFTGFHDNRKNMYSSDDKHTAIAYRLIHENL PRFIDNLQILVTIKQKHSVLYDQIVNELNANGLDVSLASHLDGYHKLLT

【０１６５】

【表８０】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		QEGITAYNRIIGEVNSYTNKHNQICHKSERIAKLRPLHKQILSDGMGVS FLPSKFADDSEMCQAVNEFYRHYAHVFAKVQSLFDRFDDYQKDGIYVEH KNLNELSKQAFGDFALLGRVLDGYYVDVVNPEFNDKFAKAKTDNAKEKL TKEKDKFIKGVHSLASLEQAIEHYIAGHDDESVQAGKLGQYFKHGLAGV DNPIQKIHNSHSTIKGFLERERPAGERTLPKIKSDKSLEMTQLRQLKEL LDNALNVVHFAKLLTTKTTLDNQDGNFYGEFGALYDELAKIATLYNKVR DYLSQKPFSTEKYKLNFGNPTLLNGWDLNKEKDNFGVILQKDGCYYLAL LDKAHKKVFDNAPNTGKSVYQKMVYKLLPGSNKMLPKVFFAKSNLDYYN PSAELLDKYAQGTHKKGDNFNLKDCHALIDFFKASINKHPEWQHFGFEF SLTSSYQDLSDFYREVEPQGYQVKFVDIDADYIDELVEQGQLYLFQIYN KDFSPKAHGKPNLHTLYFKALFSEDNLANPIYKLNGEAEIFYRKASLDM NETTIHRAGEVLENKNPDNPKERQFVYDIIKDKRYTQDKFMLHVPITMN FGVQGMTIKEFNKKVNQSIQQYDEVNVIGIDRGERHLLYLTVINSKGEI LEQRSLNDIITTSANGTQMTTPYHKILDKREIERLNARVGWGEIETIKE LKSGYLSHVVHQISQLMLKYNAIVVLEDLNFGFKRGRFKVEKQIYQNFE NALIKKLNHLVLKDKADNEIGSYKNALQLTNNFTDLKSIGKQTGFLFYV PAWNTSKIDPVTGFVDLLKPRYENIAQSQAFFDKFDKICYNADKGYFEF HIDYAKFTDKAKNSRQIWTICSHGDKRYVYDKTANQNKGATIGINVNDE LKSLFARYRINDKQPNLVMDICQNNDKEFHKSLTYLLKALLALRYSNAS SDEDFILSPVANDKGVFFNSALADDTQPQNADANGAYHIALKGLWLLNE LKNSDDLDKVKLAIDNQTWLNFAQNR
ART18	18	MKYTDFTGIYPVSKTLRFELIPQGSTVENMKREGILNNDMHRADSYKEM KKLIDEYHKVFIERCLSDFSLKYDDTGKHDSLEEYFFYYEQKRNDKTKK IFEDIQVALRKQISKRFTGDTAFKRLFKKELIKEDLPSFVKNDPVKTEL IKEFSDFTTYFQEFHKNRKNMYTSDAKSTAIAYRIINENLPKFIDNINA FHIVAKVPEMQEHFKTIADELRSHLQVGDDIDKMFNLQFFNKVLTQSQL AVYNAVIGGKSEGNKKIQGINEYVNLYNQQHKKARLPMLKLLYKQILSD RVAISWLQDEFDNDQDMLDTIEAFYNKLDSNETGVLGEGKLKQILMGLD GYNLDGVFLRNDLQLSEVSQRLCGGWNIIKDAMISDLKRSVQKKKKETG ADFEERVSKLFSAQNSFSIAYINQCLGQAGIRCKIQDYFACLGAKEGEN EAETTPDIFDQIAEAYHGAAPILNARPSSHNLAQDIEKVKAIKALLDAL KRLQRFVKPLLGRGDEGDKDSFFYGDFMPIWEVLDQLTPLYNKVRNRMT RKPYSQEKIKLNFENSTLLNGWDLNKEHDNTSVILRREGLYYLGIMNKN

【０１６６】

【表８１】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		YNKIFDANNVETIGDCYEKMIYKLLPGPNKMLPKVFFSKSRVQEFSPSK KILEIWESKSFKKGDNFNLDDCHALIDFYKDSIAKHPDWNKFNFKFSDT QSYTNISDFYRDVNQQGYSLSFTKVSVDYVNRMVDEGKLYLFQIYNKDF SPQSKGTPNMHTLYWRMLFDERNLHNVIYKLNGEAEVFYRKASLRCDRP THPAHQPITCKNENDSKRVCVFDYDIIKNRRYTVDKFMFHVPITINYKC TGSDNINQQVCDYLRSAGDDTHIIGIDRGERNLLYLVIIDQHGTIKEQF SLNEIVNEYKGNTYCTNYHTLLEEKEAGNKKARQDWQTIESIKELKEGY LSQVIHKISMLMQRYHAIVVLEDLNGSFMRSRQKVEKQVYQKFEHMLIN KLNYLVNKQYDAAEPGGLLHALQLTSRMDSFKKLGKQSGFLFYIPAWNT SKIDPVTGFVNLFDTRYCNEAKAKEFFEKFDDISYNDERDWFEFSFDYR HFTNKPTGTRTQWTLCTQGTRVRTFRNPEKSNHWDNEEFDLTQAFKDLF NKYGIDIASGLKARIVNGQLTKETSAVKDFYESLLKLLKLTLQMRNSVT GTDIDYLVSPVADKDGIFFDSRTCGSLLPANADANGAFNIARKGLMLLR QIQQSSIDAEKIQLAPIKNEDWLEFAQEKPYL
ART19	19	METFSGFTNLYPLSKTLRFRLIPVGETLKYFIGSGILEEDQHRAESYVK VKAIIDDYHRAYIENSLSGFELPLESTGKFNSLEEYYLYHNIRNKTEEI QNLSSKVRTNLRKQVVAQLTKNEIFKRIDKKELIQSDLIDFVKNEPDAN EKIALISEFRNFTVYFKGFHENRRNMYSDEEKSTSIAFRLIHENLPKFI DNMEVFAKIQNTSISENFDAIQKELCPELVTLCEMFKLGYFNKTLSQKQ IDAYNTVIGGKTTSEGKKIKGLNEYINLYNQQHKQEKLPKMKLLFKQIL SDRESASWLPEKFENDSQVVGAIVNFWNTIHDTVLAEGGLKTIIASLGS YGLEGIFLKNDLQLTDISQKATGSWGKISSEIKQKIEVMNPQKKKESYE TYQERIDKIFKSYKSFSLAFINECLRGEYKIEDYFLKLGAVNSSSLQKE NHFSHILNTYTDVKEVIGFYSESTDTKLIRDNGSIQKIKLFLDAVKDLQ AYVKPLLGNGDETGKDERFYGDLIEYWSLLDLITPLYNMVRNYVTQKPY SVDKIKINFQNPTLLNGWDLNKETDNTSVILRRDGKYYLAIMNNKSRKV FLKYPSGTDRNCYEKMEYKLLPGANKMLPKVFFSKSRINEFMPNERLLS NYEKGTHKKSGTCFSLDDCHTLIDFFKKSLDKHEDWKNFGFKFSDTSTY EDMSGFYKEVENQGYKLSFKPIDATYVDQLVDEGKIFLFQIYNKDFSEH SKGTPNMHTLYWKMLFDETNLGDVVYKLNGEAEVFFRKASINVSHPTHP ANIPIKKKNLKHKDEERILKYDLIKDKRYTVDQFQFHVPITMNFKADGN GNINQKAIDYLRSASDTHIIGIDRGERNLLYLVVIDGNGKICEQFSLNE IEVEYNGEKYSTNYHDLLNVKENERKQARQSWQSIANIKDLKEGYLSQV

【０１６７】

【表８２】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		IHKISELMVKYNAIVVLEDLNAGFMRGRQKVEKQVYQKFEKKLIEKLNY LVFKKQSSDLPGGLMHAYQLANKFESFNTLGKQSGFLFYIPAWNTSKMD PVTGFVNLFDVKYESVDKAKSFFSKFDSIRYNVERDMFEWKFNYGEFTK KAEGTKTDWTVCSYGNRIITFRNPDKNSQWDNKEINLTENIKLLFERFG IDLSSNLKDEIMQRTEKEFFIELISLFKLVLQMRNSWTGTDIDYLVSPV CNENGEFFDSRNVDETLPQNADANGAYNIARKGMILLDKIKKSNGEKKL ALSITNREWLSFAQGCCKNG
ART20	20	METFSGFTNLYPLSKTLRFRLIPVGETLKHFIDSGILEEDQHRAESYVK VKAIIDDYHRAYIENSLSGFELPLESTGKFNSLEEYYLYHNIRNKTEEI QNLSSKVRTNLRKQVVVQLTKNEIFKRIDKKELIQSDLIDFVKNEPDAN EKIALISEFRNFTVYFKGFHENRRNMYSDEEKSTSIAFRLIHENLPKFI DNMEVFAKIQNTSISENFDAIQKELCPELVTLCEMFKLGYFNKTLSQKQ IDAYNTVIGGKTTSEGKKIKGLNEYINLYNQQHKQEKLPKMKLLFKQIL SDRESASWLPEKFENDSQVVGAMVNFWNTIHDTVLAEGGLKTIIASLGS YGLEGIFLKNDLQLTDISQKATGSWSKISSEIKQKIEVMNPQKKKESYE SYQERIDKLFKSYKSFSLAFINECLRGEYKIEDYFLKLGAVNSSSLQKE NHFSHILNAYTDVKEAIGFYSESTDTKLIQDNDSIQKIKQFLDAVKDLQ AYVKPLLGNGDETGKDERFYGDLIEYWSLLDLITPLYNMVRNYVTQKPY SVDKIKINFQNPTLLNGWDLNKETDNTSVILRRDGKYYLAIMNNKSRKV FLKYPSGTDGNCYEKMEYKLLPGANKMLPKVFFSKSRINEFMPNERLLS NYEKGTHKKSGICFSLDDCHTLIDFFKKSLDKHEDWKNFGFKFSDTSTY EDMSGFYKEVENQGYKLSFKPIDATYVDQLVDEGKIFLFQIYNKDFSEH SKGTPNMHTLYWKMLFDETNLGDVVYKLNGEAEVFFRKASINVSHPTHP ANIPIKKKNLKHKDEERILKYDLIKDKRYTVDQFQFHVPITMNFKADGN GNINQKAIDYLCSASDTHIIGIDRGERNLLYLVVIDGNGKICEQFSLNE IEVEYNGEKYSTNYHDLLNVKENERKQARQSWQSIANIKDLKEGYLSQV IHKISELMVKYNAIVVLEDLNAGFMRGRQKVEKQVYQKFEKKLIEKLNY LVFKKQSSDLPGGLMHAYQLANKFESFNALGKQSGFLFYIPAWNTSKMD PVTGFVNLFDVKYESVDKAKSFFSKFDSMRYNVERDMFEWKFNYGEFTK KAEGTKTDWTVCSYGNRIITFRNPDKNSQWDNKEINLTENIKLLFERFG IDLSSNLKDEIMQRTEKEFFIELISLFKLVLQMRNSWTGTDIDYLVSPV CNENGEFFDSRNVDETLPQNADANGAYNIARKGMILLDKIKKSNGEKKL ALSITNREWLSFAQGCCKNG

【０１６８】

【表８３】

名称	配列番号	アミノ酸配列
ART21	21	METFSGFTNLYPLSKTLRFRLIPVGETLKHFIGSGILEEDQHRAESYVK VKAIIDDYHRTYIENSLSGFELPLESTGKFNSLEEYYLYHNIRNKTEEI QNLSSKVRTNLRKQVVTQLTKNEIFKRIDKKELIQSDLIDFVKNEPDAN EKIALISEFRNFTVYFKGFHENRRNMYSDEEKSTSIAFRLIHENLPKFI DNMEVFAKIQNTSISENFDAIQKELCPELVTLCEMFKLGYFNKTLSQKQ IDAYNTVIGGKTTSEGKKIKGLNEYINLYNQQHKQEKLPKMKLLFKQIL SDRESASWLLEKFENDSQVVGAMVNFWNTIHDTVLAEGGLKTIIASLGS YGLEGIFLKNDLQLTDISQKATGSWSKISSEIKQKIEAMNPQKKKESYE SYQERIDKLFKSYKSFSLAFVNECLRGEYKIEDYFLKLGAVNSSLLQKE NHFSHILNTYTDVKEVIGFYSESTDTKLIQDNDSIQKIKQFLDAVKDLQ AYVKPLLGNSDETGKDERFYGDLIEYWSLLDLITPLYNMVRNYVTQKPY SVDKIKINFQNPTLLNGWDLNKEMDNTSVILRRDGKYYLAIMNNKSRKV FLKYPSGTDRNCYEKMEYKLLPGANKMLPKVFFSKSRINEFMPNERLLS NYEKGTHKKSGTCFSLDDCHTLIDFFKKSLNKHEDWKNFGFKFSDTSTY EDMSGFYKEVENQGYKLSFKPIDATYVDQLVDEGKIFLFQIYNKDFSEH SKGTPNMHTLYWKMLFDETNLGDVVYKLNGEAEVFFRKASINVSHPTHP ANIPIKKKNLKHKDEERILKYDLIKDKRYTVDQFQFHVPITMNFKANGN GNINQKAIDYLRSASDTHIIGIDRGERNLLYLVVIDGNGKICEQFSLNE IEVEYNGEKYSTNYHDLLNVKENERKQARQSWQSIANIKDLKEGYLSQV IHKISELMVKYNAIVVLEDLNAGFMRGRQKVEKQVYQKFEKKLIEKLNY LVFKKQSSDLPGGLMHAYQLANKFESFNTLGKQSGFLFYIPAWNTSKMD PVTGFVNLFDVKYESVDKAKSFFSKFDSIRYNVERDMFEWKFNYDEFTK KAEGTKTDWTVCSYGNRIITFRNPDKNSQWDNKEINLTENIKLLFERFG IDLSSNLKDEIMERTEKEFFIELISLFKLVLQMRNSWTGTDIDYLVSPV CNENGEFFDSRNVDETLPQNADANGAYNIARKGMILLDKIKKNNGEKKL TLSITNREWLSFAQGCCKNG
ART22	22	MLFQDFTHLYPLSKTVRFELKPIGKTLEHIHAKNFLSQDKTMADMYQKV KAILDDYHRDFIADMMGEVKLTKLAEFCDVYLKFRKNPKDDGLQKQLKD LQAVLRKEIVKPIGNGGKYKVGYDRLFGAKLFKDGKELGDLAKFVIAQE SESSPKLPQIAHFEKFSTYFTGFHDNRKNMYSSDDKHTAIAYRLIHENL PRFIDNLQILATIKQKHSALYDQIASELTASGLDVSLASHLGGYHKLLT QEGITAYNRIIGEVNSYTNKHNQICHKSERIAKLRPLHKQILSDGMGVS FLPSKFADDSEMCQAVNEFYRHYADVFAKVQSLFDRFDDYQKDGIYVEH

【０１６９】

【表８４】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		KNLNELSKRAFGDFGFLKRFLEEYYADVIDPEFNEKFAKTEPDSDEQKK LAGEKDKFVKGVHSLASLEQVIEYYTAGYDDESVQADKLGQYFKHRLAG VDNPIQKIHNSHSTIKGFLERERPAGERALPKIKSDKSPEMTQLRQLKE LLDNALNVVHFAKLVSTETVLDTRSDKFYGEFRPLYVELAKITTLYNKV RDYLSQKPFSTEKYKLNFGNPTLLNGWDLNKEKDNFGVILQKDGCYYLA LLDKAHKKVFDNAPNTGKSVYQKMVYKQIANARRDLACLLIINGKVVRK TKGLDDLREKYLPYDIYKIYQSESYKVLSPNFNHQDLVKYIDYNKILAS GYFEYFDFRFKESSEYKSYKEFLDDVDNCGYKISFCNINADYIDELVEQ GQLYLFQIYNKDFSPKAHGKPNLHTLYFKALFSEDNLANPIYKLNGEAQ IFYRKASLDMNETTIHRAGEVLENKNPDNPKQRQFVYDIIKDKRYTQDK FMLHVPITMNFGVQGMTIEGFNKKVNQSIQQYDDVNVIGIDRGERHLLY LTVINSKGEILEQRSLNDIITTSANGTQMTTPYHKILNKKKEGRLQARK DWGEIETIKELKAGYLSHVVHQISQLMLKYNAIVVLEDLNFGFKRGRLK VENQVYQNFENALIKKLNHLVLKDKTDDEIGSYKNALQLTNNFTDLKSI GKQTGFLFYVPARNTSKIDPETGFVDLLKPRYENITQSQAFFGKFDKIC YNTDKGYFEFHIDYAKFTDEAKNSRQTWVICSHGDKRYVYNKTANQNKG ATKGINVNDELKSLFACHHINDKQPNLVMDICQNNDKEFHKSLMYLLKA LLALRYSNANSDEDFILSPVANDEGVFFNSALADDTQPQNADANGAYHI ALKGLWVLEQIKNSDDLDKVDLEIKDDEWRNFAQNR
ART23	23	MGKNQNFQEFIGVSPLQKTLRNELIPTETTKKNITQLDLLTEDEIRAQN REKLKEMMDDYYRDVIDSTLHAGIAVDWSYLFSCMRNHLRENSKESKRE LERTQDSIRSQIYNKFAERADFKDMFGASIITKLLPTYIKQNPEYSERY DESMEILKLYGKFTTSLTDYFETRKNIFSKEKISSAVGYRIVEENAEIF LQNQNAYDRICKIAGLDLHGLDNEITAYVDGKTLKEVCSDEGFAKAITQ EGIDRYNEAIGAVNQYMNLLCQKNKALKPGQFKMKRLHKQILCKGTTSF DIPKKFENDKQVYDAVNSFTEIVMKNNDLKRLLNITQNVNDYDMNKIYV AADAYSTISQFISKKWNLIEECLLDYYSDNLPGKGNAKENKVKKAVKEE TYRSVSQLNELIEKYYVEKTGQSVWKVESYISRLAETITLELCHEIEND EKHNLIEDDDKISKIKELLDMYMDAFHIIKVFRVNEVLNFDETFYSEMD EIYQDMQEIVPLYNHVRNYVTQKPYKQEKYRLYFNTPTLANGWSKNKEY DNNAIILMRDDKYYLGILNAKKKPSKQTMAGKEDCLEHAYAKMNYYLLP GANKMLPKVFLSKKGIQDYHPSSYIVEGYNEKKHIKGSKNFDIRFCRDL IDYFKECIKKHPDWNKFNFEFSATETYEDISVFYREVEKQGYRVEWTYI

【０１７０】

【表８５】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		NSEDIQKLEEDGQLFLFQIYNKDFAVGSTGKPNLHTLYLKNLFSEENLR DIVLKLNGEAEIFFRKSSVQKPVIHKCGSILVNRTYEITESGTTRVQSI PESEYMELYRYFNSEKQIELSDEAKKYLDKVQCNKAKTDIVKDYRYTMD KFFIHLPITINFKVDKGNNVNAIAQQYIAEQEDLHVIGIDRGERNLIYV SVIDMYGRILEQKSFNLVEQVSSQGTKRYYDYKEKLQNREEERDKARKS WKTIGKIKELKEGYLSSVIHEIAQMVVKYNAIIAMEDLNYGFKRGRFKV ERQVYQKFETMLISKLNYLADKSQAVDEPGGILRGYQMTYVPDNIKNVG RQCGIIFYVPAAYTSKIDPTTGFINAFKRDVVSTNDAKENFLMKFDSIQ YDIEKGLFKFSFDYKNFATHKLTLAKTKWDVYTNGTRIQNMKVEGHWLS MEVELTTKMKELLDDSHIPYEEGQNILDDLREMKDITTIVNGILEIFWL TVQLRNSRIDNPDYDRIISPVLNNDGEFFDSDEYNSYIDAQKAPLPIDA DANGAFCIALKGMYTANQIKENWVEGEKLPADCLKIEHASWLAFMQGER G
ART24	24	MNTSLFSSFTRQYPVTKTLRFELKPMGATLGHIQQKGFLHKDEELAKIY KKIKELLDEYHRAFIADTLGDAQLVGLDDFYADYQALKQDSKNSHLKDK LTKTQDNLRKQITKNFEKTPQLKERYKRLFTKELFKAGKDKGDLEKWLI NHDSEPNKAEKISWIHQFENFTTYFQGFYENRKNMYSDEVKHTAIAYRL IHENLPRFVDNIQVLSKIKSDYPDLYHELNHLDSRTIDFADFKFDDMLQ MDFYHHLLIQSGITAYNTLLGGKVLEGGKKLQGINELINLYGQKHKIKI AKLKPLHKQILSDGQSVSFLPKKFDNDYELCQTVNHFYREYVAIFDELV VLFQKFYDYDKDNIYINHQQLNQLSHELFADFRLLSRALDFYYCQIIDG DFNNKINNAKSQNAKEKLLKEKERYTKSNHSINELQKAINHYASHHEDT EVKVISDYFSATNIRNMIDGIHHHFSTIKGFLEKDNNQGESYLPKQKNS NDVKNLKLFLDGVLRLIHFIKPLALKSDDTLEKEEHFYGEFMPLYDKLV MFTLLYNKVRDYISQKPYNDEKIKLNFGNSTLLNGWDVNKEKDNFGVIL CKEGLYYLAILDKSHKKVFDNAPKATSSHTYQKMVYKLLPGPNKMLPKV FFAKSNIGYYQPSAQLLENYEKGTHKKGSNFSLTDCHHLIDFFKSSIAK HPEWKEFGFRFSDTHTYQDLSDFYKEIEPQSYKVKFIDIDADYIDDLVE KGQLYLFQLYNKDFSKQSYGKPNLHTLYFKSLFSDDNLKNPIYKLNGEA EIFYRRASLSVSDTTIHQAGEILTPKNPNNTHNRTLSYDVIKNKRYTTD KFFLHIPITMNFGIENTGFKAFNHQVNTTLKNADKKDVHIIGIDRGERH LLYVSVIDGDGRIVEQRTLNDIVSISNNGMSMSTPYHQILDNREKERLA ARTDWGDIKNIKELKAGYLSHVVHEVVQMMLKYNAMIVLEDLNFGFKHG

【０１７１】

【表８６】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		RFKVEKQVYQNFENALIKKLNYLVLKNADNHQLGSVRKALQLTNNFTDI KSIGKQTGFIFYVPAWNTSKIDPTTGFVDLLKPRYENMAQAQSFISRFK KIAYNHQLDYFEFEFDYADFYQKTIDKKRIWTLCTYGDVRYYYDHKTKE TKTVNITKELKSLLDKHDLSYQNGHNLVDELANSHDKSLLSGVMYLLKV LLALRYSHAQKNEDFILSPVMNKDGVFFDSRFADDVLPNNADANGAYHI ALKGLWVLNQIQSADNMDKIDLSISNEQWLHFTQSR
ART25	25	MVGNKISNSFDSFTGINALSKTLRNELIPSDYTKRHIAESDFIAADTNK NEDQYVAKEMMDDYYRDFISKVLDNLHDIEWKNLFELMHKAKIDKSDAT SKELIKIQDMLRKKIGKKFSQDPEYKVMLSAGMITKILPKYILEKYETD REDRLEAIKRFYGFTVYFKEFWASRQNVFSDKAIASSISYRIIHENAKI YMDNLDAYNRIKQIACEEIEKIEEEAYDFLQGDQLDVVYTEEAYGRFIS QSGIDLYNNICGVINAHMNLYCQSKKCSRSKFKMQKLHKQILCKAETGF EIPLGFQDDAQVINAINSFNALIKEKNIISRLRTIGKSISLYDVNKIYI SSKAFENVSVYIDHKWDVIASSLYKYFSEIVKGNKDNREEKIQKEIKKV KSCSLGDLQRLVNSYYKIDSTCLEHEVTEFVTKIIDEIDNFQITDFKFN DKISLIQNEQIVMDIKTYLDKYMSIYHWMKSFVIDELVDKDMEFYSELD ELNEDMSEIVNLYNKVRNYVTQKPYSQEKIKLNFGSPTLADGWSKSKEF DNNAIILIRDEKIYLAIFNPRNKPAKTVISGHDVCNSETDYKKMNYYLL PGASKTLPHVFIKSRLWNESHGIPDEILRGYELGKHLKSSVNFDVEFCW KLIDYYKECISCYPNYKAYNFKFADTESYNDISEFYREVECQGYKIDWT YISSEDVEQLDRDGQIYLFQIYNKDFAPNSKGMDNLHTKYLKNIFSEDN LKNIVIKLNGEAELFYRKSSVKKKVEHKKGTILVNKTYKVEDNTENSKE KRVIIESVPDDCYMELVDYWRNGGIGILSDKAVQYKDKVSHYEATMDIV KDRRYTVDKFFIHLPITINFKADGRININEKVLKYIAENDELHVIGIDR GERNLLYVSVINKKGKIVEQKSFNMIESYETVTNIVRRYNYKDKLVNKE SARTDARKNWKEIGKIKEIKEGYLSQVIHEISKMVLKYNAIIVMEDLNY GFKRGRFRVERQVYQKFENMLISKLAYLVDKSRKADEPGGVLRGYQLTY IPDSLEKLGSQCGIIFYVPAAYTSKIDPLTGFVNVFNFREYSNFETKLD FVRSLDSIRYDTEKKLFSISFDYDNFKTHNTTLAKTKWVIYLRGERIKK EHTSYGWKDDVWNVESRIKDLFDSSHMKYDDGHNLIEDILELESSVQKK LINELIEIIRLTVQLRNSKSERYDRTEAEYDRIVSPVMDENGRFYDSEN YIFNEETELPKDADANGAYCIALKGLYNVIAIKNNWKEGEKFNRKLLSL NNYNWFDFIQNRRF

【０１７２】

【表８７】

名称	配列番号	アミノ酸配列
ART26	26	MVGNKISNSFDSFTGINALSKTLRNELIPSDYTKRHIAESDFIAADTNK NEDQYVAKEMMDDYYRDFISKVLDNLHDIEWKNLFELMHKAKIDKSDAT SKELIKIQDMLRKKIGKKFSQDPEYKVMLSAGMITKILPKYILEKYETD REDRLEAIKRFYGFTVYFKEFWASRQNVFSDKAIASSISYRIIHENAKI YMDNLDAYNRIKQIACEEIEKIEEEAYDFLQGDQLDVVYTEEAYGRFIS QSGIDLYNNICGVINAHMNLYCQSKKCSRSKFKMQKLHKQILCKAETGF EIPLGFQDDAQVINAINSFNALIKEKNIISRLRTIGKSISLYDVNKIYI SSKAFENVSVYIDHKWDVIASSLYKYFSEIVKGNKDNREEKIQKEIKKV KSCSLGDLQRLVNSYYKIDSTCLEHEVTEFVTKIIDEIDNFQITDFKFN DKISLIQNEQIVMDIKTYLDKYMSIYHWMKSFVIDELVDKDMEFYSELD ELNEDMSEIVNLYNKVRNYVTQKPYSQEKIKLNFGSPTLADGWSKSKEF DNNAIILIRDEKIYLAIFNPRNKPAKTVISGHDVCNSETDYKKMNYYLL PGASKTLPHVFIKSRLWNESHGIPDEILRGYELGKHLKSSVNFDVEFCW KLIDYYKECISCYPNYKAYNFKFADTESYNDISEFYREVECQGYKIDWT YISSEDVEQLDRDGQIYLFQIYNKDFAPNSKGMDNLHTKYLKNIFSEDN LKNIVIKLNGEAELFYRKSSVKKKVEHKKGTILVNKTYKVEDNTENSKE KRVIIESVPDDCYMELVDYWRNGGIGILSDKAVQYKDKVSHYEATMDIV KDRRYTVDKFFIHLPITINFKADGRININEKVLKYIAENDELHVIGIDR GERNLLYVSVINKKGKIVEQKSFNMIESYETVTNIVRRYNYKDKLVNKE SARTDARKNWKEIGKIKEIKEGYLSQVIHEISKMVLKYNAIIVMEDLNY GFKRGRFRVERQVYQKFENMLISKLAYLVDKSRKADEPGGVLRGYQLTY IPDSLEKLGSQCGIIFYVPAAYTSKIDPLTGFVNVFNFREYSNFETKLD FVRSLDSIRYDTEKKLFSISFDYDNFKTHNTTLAKTKWVIYLRGERIKK EHTSYGWKDDVWNVESRIKDLFDSSHMKYDDGHNLIEDILELESSVQKK LINELIEIIRLTVQLRNSKSERYDRTEAEYDRIVSPVMDENGRFYDSEN YIFNEETELPKDADANGAYCIALKGLYNVIAIKNNWKEGEKFNRKLLSL NNYNWFDFIQNRRFQIYLFQIYNKDFAPNSKGMDNLHTKYLKNIFSEDN LKNIVIKLNGEAELFYRKSSVKKKVEHKKGTILVNKTYKVEDNTENSKE KRVIIESVPDDCYMELVDYWRNGGIGILSDKAVQYKDKVSHYEATMDIV KDRRYTVDKFFIHLPITINFKADGRININEKVLKYIAENDELHVIGIDR GERNLLYVSVINKKGKIVEQKSFNMIESYETVTNIVRRYNYKDKLVNKE SARTDARKNWKEIGKIKEIKEGYLSQVIHEISKMVLKYNAIIVMEDLNY GFKRGRFRVERQVYQKFENMLISKLAYLVDKSRKADEPGGVLRGYQLTY

【０１７３】

【表８８】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		IPDSLEKLGSQCGIIFYVPAAYTSKIDPLTGFVNVFNFREYSNFETKLD FVRSLDSIRYDTEKRLFSISFDYDNFKTHNTTLAKTKWVIYLRGERIKK EHTSYGWKDDVWNVESRIKDLFDSSHMKYDDGHNLIEDILELESSVQKK LINELIEIIRLTVQLRNSKSERYDRTEAEYDRIVSPVMDEKGRFYDSEN YIFNEETELPKDADANGAYCIALKGLYNVIAIKNNWKEGEKFNRKLLSL NNYNWFDFIQNRRF
ART27	27	MQEHKKISHLTHRNSVQKTIRMQLNPVGKTMDYFQAKQILENDEKLKED YQKIKEIADRFYRNLNEDVLSKTGLDKLKDYAEIYYHCNTDADRKRLDE CASELRKEIVKNFKNRDEYNKLFNKKMIEIVLPQHLKNEDEKEVVASFK NFTTYFTGFFTNRKNMYSDGEESTAIAYRCINENLPKHLDNVKAFEKAI SKLSKNAVDDLDTTYSGLCGTNLYDVFTVDYFNFLLPQSGITEYNKIIG GYTTSDGTKVKGINEYINLYNQQVSKRYKIPNLKILYKQILSESEKVSF IPPKFEDDNELLSAVSEFYANDETFDGMPLKKAIDETKLLFGNLDNSSL NGIYIQNDRSVTNLSNSMFGSWSVIEDLWNKNYDSVNSNSRIKDIQKRE DKRKKAYKAEKKLSLSFLQVLISNSENDEIREKSIVDYYKTSLMQLTDN LSDKYKEAAPLFNESYANEKGLKNDDKSISLIKNFLDAIKEIEKFIKPL SETNITGEKNDLFYSQFTPLLDNISRIDILYDKVRNYVTQKPFSTDKIK LNFGNSQLLNGWDRNKEKDCGAVWLCKDEKYYLAIIDKSNNSILENIDF QDCDESDCYEKIIYKLLPGPNKMLPKVFFSEKCKKLLSPSDEILKIRKN GTFKKGDKFSLDDCHKLIDFYKESFKKYPNWLIYNFKFKKTNEYNDISE FYNDVASQGYNISKMKIPTSFIDKLVDEGKIYLFQLYNKDFSPHSKGTP NLHTLYFKMLFDERNLEDVVYKLNGEAEMFYRPASIKYDKPTHPKNTPI KNKNTLNDKRASTFPYDLIKDKRYTKWQFSLHFPITMNFKAPDRAMIND DVRNLLKSCNNNFIIGIDRGERNLLYVSIIDSNGAIIYQHSLNIIGNKF KGKTYETNYREKLETREKERTEQRRNWKAIESIKELKEGYISQAVHVIC QLVVKYDAIIVMEKLTDGFKRGRTKFEKQVYQKFEKMLIDKLNYYVDKK LDPDEEGGLLHAYQLTNKLESFDKLGMQSGFIFYVRPDFTSKIDPVTGF VNLLYPRYENIDKAKDMISRFDDIRYNAGEDFFEFDIDYDKFPKTASDY RKKWTICTNGERIEAFRNPASNNEWSYRTIILAEKFKELFDNNSINYRD SDNLKAEILSQTKGKFFEDFFKLLRLTLQMRNSNPETGEDRILSPVKDK NGNFYDSSKYDEKSNLPCDADANGAYNIARKGLWIVEQFKKSDNVSTVE PVIHNDKWLKFVQENDMANN

【０１７４】

【表８９】

名称	配列番号	アミノ酸配列
ART28	28	MKNLANFTNLYSLQKTLRFELKPIGKTLDWIIKKDLLKQDEILAEDYKI VKKIIDRYHKDFIDLAFESAYLQKKSSDSFTAIMEASIQSYSELYFIKE KSDRDKKAMEEISGIMRKEIVECFTGKYSEVVKKKFGNLFKKELIKEDL LNFCEPDELPIIQKFADFTTYFTGFHENRENMYSNEEKATAIANRLIRE NLPRYLDNLRIIRSIQGRYKDFGWKDLESNLKRIDKNLQYSDFLTENGF VYTFSQKGIDRYNLILGGQSVESGEKIQGLNELINLYRQKNQLDRRQLP NLKELYKQILSDRTRHSFVPEKFSSDKALLRSLLDFHKEVIQNKNLFEE KQVSLLQAIRETLTDLKSFDLDRIYLTNDTSLTQISNFVFGDWSKVKTI LAIYFDENIANPKDRQRQSNSYLKAKENWLKKNYYSIHELNEAISVYGK HSDEELPNTKIEDYFSGLQTKDETKKPIDVLDAIVSKYADLESLLTKEY PEDKNLKSDKGSIEKIKNYLDSIKLLQNFLKPLKPKKVQDEKDLGFYND LELYLESLESANSLYNKVRNYLTGKEYSDEKIKLNFKNSTLLDGWDENK ETSNLSVIFRDTNNYYLGILDKQNNRIFESIPEIQSGEETIQKMVYKLL PGANNMLPKVFFSEKGLLKFNPSDEITSLYSEGRFKKGDKFSINSLHTL IDFYKKSLAVHEDWSVFNFKFDETSHYEDISQFYRQVESQGYKITFKPI SKKYIDTLVEDGKLYLFQIYNKDFSQNKKGGGKPNLHTIYFKSLFEKEN LKDVIVKLNGQAEVFFRKKSIHYDENITRYGHHSELLKGRFSYPILKDK RFTEDKFQFHFPITLNFKSGEIKQFNARVNSYLKHNKDVKIIGIDRGER HLLYLSLIDQDGKILRQESLNLIKNDQNFKAINYQEKLHKKEIERDQAR KSWGSIENIKELKEGYLSQVVHTISKLMVEHNAIVVLEDLNFGFKRGRQ KVERQVYQKFEKMLIEKLNFLVFKDKEMDEPGGILKAYQLTDNFVSFEK MGKQTGFVFYVPAWNTSKIDPKTGFVNFLHLNYENVNQAKELIGKFDQI RYNQDRDWFEFQVTTDQFFTKENAPDTRTWIICSTPTKRFYSKRTVNGS VSTIEIDVNQKLKELFNDCNYQDGEDLVDRILEKDSKDFFSKLIAYLRI LTSLRQNNGEQGFEERDFILSPVVGSDGKFFNSLDASSQEPKDADANGA YHIALKGLMNLHVINETDDESLGKPSWKISNKDWLNFVWQRPSLKA
ART29	29	MQEHKKISHLTHRNSVQKTIRMQLNPVGKTMDYFQAKQILENDEKLKEN YQKIKEIADRFYRNLNEDVLSKTRLDKLKDYTDIYYHCNTDADRKRLDE CASELRKEIVKNFKNRDEYNKLFNKKMIEIVLPKHLKNEDEKEVVTSFK NFTTYFTGFFTNRKNMYSDGEESTAIAYRCINENLPKHLDNVKAFEKAI SKLSKNAIDDLDTTYSGLCGTNLYDVFTVDYFNFLLPQSGITEYNKIIG GYTTNDGTKVKGINEYINLYNQQVSKRDKIPNLKILYKQILSESEKVSF IPPKFEDDNELLSAVSEFYANDETFDGMPLKKAIDETKLLFGNLDNPSL

【０１７５】

【表９０】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		NGIYIQNDRSVTNLSNSMFGSWSVIEDLWNKNYDSVNSNSRIKDIQKRE DKRKKAYKAEKKLSLSFLQVLISNSENDEIREKSIVDYYKTSLMQLTDN LSDKYNEAAPLLNENYSNEKGLKNDDKSISLIKNFLDAIKEIEKFIKPL SETNITGEKNDLFYSQFTPLLDNISRIDILYDKVRNYVTQKPFSTDKIK LNFGNSQLLNGWDRNKEKDCGAVWLCKDEKYYLAIIDKSNNSILENIDF QDCDESDCYEKIIYKLLPGPNKMLPKVFFSEKCKKLLSPSDEILKIYKS GTFKTGDKFSLDDCHKLIDFYKESFKKYPNWLIYNFKFKKTNEYNDIRE FYNDVALQGYNISKMKIPTSFIDKLVDEGKIYLFQLYNKDFSPHSKGTP NLHTLYFKMLFDERNLEDVVYRLNGEAEMFYRPASIKYDKPTHPKNTPI KNKNTLNDKKTSTFPYDLIKDKRYTKWQFSLHFPITMNFKAPDKAMIND DVRNLLKSCNNNFIIGIDRGERNLLYVSVIDSNGAIIYQHSLNIIGNKF KEKTYETNYREKLATREKERTEQRRNWKAIESIKELKEGYISQAVHVIC QLVVKYDAIIVMEKLTDGFKRGRTKFEKQVYQKFEKMLIDKLNYYVDKK LDPDEEGGLLHAYQLTNKLESFDKLGMQSGFIFYVRPDFTSKIDPVTGF VNLLYPQYENIDKAKDMISRFDEIRYNAGEDFFEFDIDYDEFPKTASDY RKKWTICTNGERIEAFRNPANNNEWSYRTIILAEKFKELFDNNSINYRD SDDLKAEILSQTKGKFFEDFFKLLRLTLQMRNSNPETGEDRILSPVKDK NGNFYDSSKYDEKSKLPCDADANGAYNIARKGLWIVEQFKKADNVSTVE PVIHNDQWLKFVQENDMANN
ART30	30	MQEHKKISHLTHRNSVQKTIRMQLNPVGKTMDYFQAKQILENDEKLKED YQKIKEIADRFYRNLNEDVLSKTGLDKLKDYADIYYHCNTDADRKRLNE CASELRKEIVKNFKNRDEYNKLFNKKMIEIVLPKHLKNEDEKEVVASFK NFTTYFTGFFTNRKNMYSDGEESTAIAYRCINENLPKHLDNVKVFEKAI SKLSKNAIDDLGATYSGLCGTNLYDVFTVDYFNFLLPQSGITEYNKIIG GYTTSDGTKVKGINEYINLYNQQVSKRDKIPNLKILYKQILSESEKVSF IPPKFEDDNELLSAVSEFYANDETFDGMPLKKAIDETKLLFGNLDNSSL NGIYIQNDRSVTNLSNSMFGSWSVIEDLWNKNYDSVNSNSRIKDIQKRE DKRKKAYKAEKKLSLSFLQVLISNSENDEIREKSIVDYYKTSLMQLTDN LSDKYKEAAPLFSENYDNEKGLKNDDKSISLIKNFLDAIKEIEKFIKPL SETNITGEKNDLFYSQFTPLLDNISRIDILYDKVRNYVTQKPFSTDKIK LNFGNSQLLNGWDKDKEREYGAVLLCKDEKYYLAIIDKSNNSILENIDF QDCNESDYYEKIVYKLLTKINGNLPRVFFSEKRKKLLSPSDEILKIYKS GTFKKGDKFSLDDCHKLIDFYKESFKKYPNWLIYNFKFKNTNEYNDISE

【０１７６】

【表９１】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		FYNDVASQGYNISKMKIPTTFIDKLVDEGKIYLFQLYNKDFSPHSKGTP NLHTLYFKMLFDERNLEDVVYKLNGEAEMFYRPASIKYDKPTHPKNTPI KNKNTLNDKKASTFPYDLIKDKRYTKWQFSLHFPITMNFKAPDKAMIND DVRNLLKSCNNNFIIGIDRGERNLLYVSVIDSNGAIIYQHSLNIIGNKF KGKTYETNYREKLATREKDRTEQRRNWKAIESIKELKEGYISQAVHVIC QLVVKYDAIIVMEKLTDGFKRGRTKFEKQVYQKFEKMLIDKLNYYVDKK LDPDEEGGLLHAYQLTNKLESFDKLGTQSGFIFYVRPDFTSKIDPVTGF VNLLYPRYENIDKAKDMISRFDDIRYNAGEDFFEFDIDYDKFPKTASDY RKKWTICTNGERIEAFRNPANNNEWSYRTIILAEKFKELFDNNSINYRD SDDLKAEILSQTKGKFFEDFFKLLRLTLQMRNSNPETGEDRILSPVKDK NGNFYDSSKYDEKSKLPCDADANGAYNIARKGLWIVEQFKKADNVSTVE PVIHNDKWLKFVQENDMANN
ART31	31	MQERKKISHLTHRNSVKKTIRMQLNPVGKTMDYFQAKQILENDEKLKEN YQKIKEIADRFYRNLNEDVLSKTGLDKLKDYAEIYYHCNTDADRKRLNK CASELRKEIVKNFKNRDEYNKLFDKRMIEIVLPKHLKNEDEKEVVASFK NFTTYFTGFFTNRKNMYSDGEESTAIAYRCINENLPKHLDNVKAFEKAI SKLSKNAIDDLDAYSGLCGTNLYDVFTVDYFNFLLPQSGITEYNKIIGG YTTNDGTKVKGINEYINLYNQQVSKRDKIPNLQILYKQILSESEKVSFI PPKFEDDNELLSAVSEFYANDETFDGMPLKKAIDETKLLFGNLDNSSLN GIYIQNDRSVTNLSNSMFGSWSVIEDLWNKNYDSVNSNSRIKDIQKRED KRKKAYKAEKKLSLSFLQVLISNSENDEIRKKSIVDYYKTSLMQLTDNL SDKYNEAAPLLNENYSNEKGLKNDDKSISLIKNFLDAIKEIEKFIKPLS ETNITGEKNDLFYSQFTPLLDNISRIDILYDKVRNYVTQKPFSTDKIKL NFGNYQLLNGWDKDKEREYGAVLLCKDEKYYLAIIDKSNNRILENIDFQ DCDESDCYEKIIYKLLPTPNKMLPKVFFAKKHKKLLSPSDEILKIYKNG TFKKGDKFSLDDCHKLIDFYKESFKKYPKWLIYNFKFKKTNGYNDIREF YNDVALQGYNISKMKIPTSFIDKLVDEGKIYLFQLYNKDFSPHSKGTPN LHTLYFKMLFDERNLEDVVYRLNGEAEMFYRPASIKYDKPTHPKNTPIK NKNTLNDKRASTFPYDLIKDKRYTKWQFSLHFPITMNFKDPDKAMINDD VRNLLKSCNNNFIIGIDRGERNLLYVSVINSNGAIIYQHSLNIIGNKFK GKTYETNYREKLATREKDRTEQRRNWKAIESIKELKEGYISQAVHVICQ LVVKYDAIIVMEKLTDGFKRGRTKFEKQVYQKFEKMLIDKLNYYVDKKL DPDEEGGLLHAYQLTNKLESFDKLGTQSGFIFYVRPDFTSKIDPVTGFV

【０１７７】

【表９２】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		NLLYPRYEKIDKAKDMISRFDDIRYNAGEDFFEFDIDYDKFPKTASDYR KKWTICTNGERIEAFRNPANNNEWSYRTIILAEKFKELFDNNSINYRDS DDLKAEILSQTKGKFFEDFFKLLRLTLQMRNSNPETGEDRILSPVKDKN GNFYDSSKYDEKSKLPCDADANGAYNIARKGLWIVEQFKKADNVSTVEP VIHNDKWLKFVQENDMANN
ART32	32	KTGLDKLKDYAEIYYHCNTDADRKRLNKCASELRKEIVKNFKNRDEYNK LFDKRMIEIVLPKHLKNEDEKEVVASFKNFTTYFTGFFTNRKNMYSDGE ESTAIAYRCINENLPKHLDNVKAFEKAISKLSKNAIDDLDATYSGLCGT NLYDVFTVDYFNFLLPQSGITEYNKIIGGYTTSDGTKVKGINEYINLYN QQVSKRDKIPNLQILYKQILSESEKVSFIPPKFEDDNELLSAVSEFYAN DETFDEMPLKKAIDETKLLFGNLDNSSLNGIYIQNDRSVTNLSNSMFGS WSVIEDLWNKNYDSVNSNSRIKDIQKREDKRKKAYKAEKKLSLSFLQVL ISNSENNEIREKSIVDYYKTSLMQLTDNLSDKYNEVAPLLNENYSNEKG LKNDDKSISLIKNFLDAIKEIEKFIKPLSETNITGEKNDLFYSQFTPLL DNISRIDILYDKVRNYVTQKPFSTDKIKLNFGNYQLLNGWDKDKEREYG AVLLCRDEKYYLAIIDKSNNRILENIDFQDCDESDCYEKIIYKLLPTPN KMLPKVFFAKKHKKLLSPSDEILKIRKNGTFKKGDKFSLDDCHKLIDFY KESFKKYPNWLIYNFKFKKTNEYNDIREFYNDVALQGYNISKMKIPTSF IDKLVDEGKIYLFQLYNKDFSPHSKGTPNLHTLYFKMLFDERNLEDVVY KLNGEAKMFYRPASIKYDKPTHPKNTPIKNKNTLNDKKASTFPYDLIKD KRYTKWQFSLHFSITMNFKAPDKAMINDDVRNLLKSCNNNFIIGIDRGE RNLLYVSVIDSNGAIIYQHSLNIIGNKFKGKTYETNYREKLATREKERT EQRRNWKAIESIKELKEGYISQAVHVICQLVVKYDAIIVMEKLTDGFKR GRTKFEKQVYQKFEKMLIDKLNYYVDKKLDPDEEGGLLHAYQLTNKLES FDKLGTQSGFIFYVRPDFTSKIDPVTGFVNLLYPRYENIDKAKDMISRF DDIRYNAGEDFFEFDIDYDKFPKTASDYRKKWTICTNGERIEAFRNPAN NNEWSYRTIILAEKFKELFDNNSINYRDSDDLKAEILSQTKGKFFEDFF KLLRLTLQMRNSNPETGEDRILSPVKDKNGNFYDSSKYDEKSKLPCDAD ANGAYNIARKGLWIVEQFKKSDNVSTVEPVIHNDKWLKFVQENDMANN
ART33	33	MSININKFSDECRKIDFFTDLYNIQKTLRFSLIPIGATADNFEFKGRLS KEKDLLDSAKRIKEYISKYLADESDICLSQPVKLKHLDEYYELYITKDR DEQKFKSVEEKLRKELADLLKEILKRLNKKILSDYLPEYLEDDEKALED IANLSSFSTYFNSYYDNCKNMYTDKEQSTAIPYRCINDNLPKFIDNMKA

【０１７８】

【表９３】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		YEKALEELKPSDLEELRNNFKGVYDTTVDDMFTLDYFNCVLSQSGIDSY NAIIGNDKVKGINEYINLHNQTAEQGHKVPNLKRLYKQIGSQKKTISFL PSKFESDNELLKAVYDFYNTGDAEKNFTALKDTITEFEKIFDNLSEYNL DGVFVRNDISLTNLSQSMFNDWSVFRNLWNDQYDKVNNPEKAKDIDKYN DKRHKVYKKSESFSINQLQELIATTLEEDINSKKITDYFSCDFHRVTTE VENKYQLVKDLLSSDYPKNKNLKTSEEDVALIKDFLDSVKSLESFVKIL TGTGKESGKDELFYGSFTKWFDQLRYIDKLYDKVRNYITEKPYSLDKIK LSFDNPQFLGGWQHSKETDYSAQLFMKDGLYYLGVMDKETKREFKTQYN TPENDSDTMVKIEYNQIPNPGRVIQNLMLVDGKIVKKNGRKNADGVNAV LEELKNQYLPENINRIRKTESYKTTSNNFNKDDLKAYLEYYIARTKEYY CKYNFVFKSADEYGSFNEFVDDVNNQAYQITKVKVSEKQLLSLVEQGKL YLFKIYNKDFSEYSKGKKNLHTMYFQMLFDDRNLENLVYKLQGGAEMFY RPASIKKDSEFKHDANVEIIKRTCEDKVNDKDNPTDDEKAKYYSKFDYD IVKNKRFTKDQFSLHLTLAMNCNQPDHYWLNNDVRELLKKSNKNHIIGI DRGERNLIYVTIINSDGVIVDQINFNIIENSYNGKKYKTDYQKKLNQRE EDRQKARKTWKTIETIKELKDGYISQVVHQICKLIVQYDAIVVMENLNG GFKRGRTKVEKQVYQKFETMLINKLNYYVDKGTDYKECGGLLKAYQLTN KFETFERIGKQSGIIFYVDPYLTSKIDPVTGFANLLYPKYETIPKTHNF ISNIDDIRYNQSEDYFEFDIDYDKFPQGSYNYRKKWTICSYGNRIKYYK DSRNKTASVVVDITEKFKETFTNAGIDFVNDNIKEKLLLVNSKELLKSF MDTLKLTVQLRNSEINSDVDYIISPIKDRNGNFYYSENYKKSNNEVPSQ PQDGDANGAYNIARKGLMIINKLKKADDVTNNELLKISKKEWLEFAQKG DLGE
ART34	34	MKATSIWDNFTRKYSVSKTLRFELRPVGKTEENIVKKEIIDAEWISGKN IPKGTDADRARDYKIVKKLLNQLHILFINQALSSENVKEFEKEDKKSKT FVAWSDLLATHFDNWIQYTRDKSNSTVLKSLEKSKKDLYSKLGKLLNSK ANAWKAEFISYHKIKSPDNIKIRLSASNVQILFGNTSDPIQLLKYQIEL DNIKFLKDDGSEYTTKELADLLSTFEKFGTYFSGFNQNRANVYDIDGEI STSIAYRLFNQNIEFFFQNIKRWEQFTSSIGHKEAKENLKLVQWDIQSK LKELDMEIVQPRFNLKFEKLLTPQSFIYLLNQEGIDAFNTVLGGIPAEV KAEKKQGVNELINLTRQKLNEDKRKFPSLQIMYKQIMSERKTNFIDQYE DDVEMLKEIQEFSNDWNEKKKRHSASSKEIKESAIAYIQREFHETFDSL EERATVKEDFYLSEKSIQNLSIDIFGGYNTIHNLWYTEVEGMLKSGERP

【０１７９】

【表９４】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		LTRVEKEKLKKQEYISFAQIERLISKHSQQYLDSTPKEANDRSLFKEKW KKTFKNGFKVSEYTNLKLNELISEGETFQKIDQETGKETTIKIPGLFES YENAILVESIKNQSLGTNKKESVPSIKEYLDSCLRLSKFIESFLVNSKD LKEDQSLDGCSDFQNTLTQWLNEEFDVFILYNKVRNHVTKKPGNTDKIK INFDNATLLDGWDVDKEAANFGFLLKKADNYYLGIADSSFNQDLKYFNE GERLDEIEKNRKNLEKEESKNISKIDQEKVKKYKEVIDDLKAISNLNKG RYSKAFYKQSKFTTLIPKCTTQLNEVIEHFKKFDTDYRIENKKFAKPFI ITKEVFLLNNTVYDTATKKFTLKIGEDEDTKGLKKFQIGYYRATDDKKG YESALRNWITFCIEFTKSYKSCLNYNYSSLKSVSEYKSLDEFYKDLNGI GYTIDFVDISEEYINKKINEGKLYLFQIYNKDFSEKSKGKENLHTTYWK LLFDSKNLEDVVIKLNGQAEVFFRPASIHEKEKITHFKNQEIQNKNPNA VKKTSKFEYDIIKDNRFTKNKFLFHCPITLNFKADGNPYVNNEVQENIA KNPNVNIIGIDRGEKHLLYFTVINQQGQILDAGSLNSIKSEYKDKNQQS VSFETPYHKILDKKESERKEARESWQEIENIKELKAGYLSHVVHQLSNL IVKYNAIVVLEDLNKGFKRGRFKVEKQVYQKFEKSLIEKLNYLVFKDRK ESNEPGHHLNAYQLTNKFLSFERLGKQSGVLFYATASYTSKVDPVTGFM QNIYDPYHKEKTREFYKNFTKIVYNGNYFEFNYDLNSVKPDSEEKRYRT NWTVCSCVIRSEYDSNSKTQKTYNVNDQLVKLFEDAKIKIENGNDLKST ILEQDDKFIRDLHFYFIAIQKMRVVDSKIEKGEDSNDYIQSPVYPFYCS KEIQPNKKGFYELPSNGDSNGAYNIARKGIVILDKIRLRVQIEKLFEDG TKIDWQKLPNLISKVKDKKLLMTVFEEWAELTHQGEVQQGDLLGKKMSK KGEQFAEFIKGLNVTKEDWEIYTQNEKVVQKQIKTWKLFSNST
ART35	35	MKAINEYYKQLGAYCREEGKEKDDFFKRIDGAYCAISHLFFGEHGEIAQ SDSDVELIQKLLEAYKGLQRFIKPLLGHGDEADKDNEFDAKLRKVWDEL DIITPLYDKVRNWLSRKIYNPEKIKLCFENNGKLLSGWVDSRTKSDNGT QYGGYIFRKKNEIGEYDFYLGISADTKLFRRDAAISYDDGMYERLDYYQ LKSKTLLGNSYVGDYGLDSMNLLSAFKNAAVKFQFEKEVVPKDKENVPK YLKRLKLDYAGFYQILMNDDKVVDAYKIMKQHILATLTSSIRVPAAIEL ATQKELGIDELIDEIMNLPSKSFGYFPIVTAAIEEANKRENKPLFLFKM SNKDLSYAATASKGLRKGRGTENLHSMYLKALLGMTQSVFDIGSGMVFF RHQTKGLAETTARHKANEFVANKNKLNDKKKSIFGYEIVKNKRFTVDKY LFKLSMNLNYSQPNNNKIDVNSKVREIISNGGIKNIIGIDRGERNLLYL SLIDLKGNIVMQKSLNILKDDHNAKETDYKGLLTEREGENKEARRNWKK

【０１８０】

【表９５】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		IANIKDLKRGYLSQVVHIISKMMVEYNAIVVLEDLNPGFIRGRQKIERN VYEQFERMLIDKLNFYVDKHKGANETGGLLHALQLTSEFKNFKKSEHQN GCLFYIPAWNTSKIDPATGFVNLFNTKYTNAVEAQEFFSKFDEIRYNEE KDWFEFEFDYDKFTQKAHGTRTKWTLCTYGMRLRSFKNSAKQYNWDSEV VALTEEFKRILGEAGIDIHENLKDAICNLEGKSQKYLEPLMQFMKLLLQ LRNSKAGTDEDYILSPVADENGIFYDSRSCGDQLPENADANGAYNIARK GLMLIEQIKNAEDLNNVKFDISNKAWLNFAQQKPYKNGMKAINEYYKQL GAYCREEGKEKDDFFKRIDGAYCAISHLFFGEHGEIAQSDSDVELIQKL LEAYKGLQRFIKPLLGHGDEADKDNEFDAKLRKVWDELDIITPLYDKVR NWLSRKIYNPEKIKLCFENNGKLLSGWVDSRTKSDNGTQYGGYIFRKKN EIGEYDFYLGISADTKLFRRDAAISYDDGMYERLDYYQLKSKTLLGNSY VGDYGLDSMNLLSAFKNAAVKFQFEKEVVPKDKENVPKYLKRLKLDYAG FYQILMNDDKVVDAYKIMKQHILATLTSSIRVPAAIELATQKELGIDEL IDEIMNLPSKSFGYFPIVTAAIEEANKRENKPLFLFKMSNKDLSYAATA SKGLRKGRGTENLHSMYLKALLGMTQSVFDIGSGMVFFRHQTKGLAETT ARHKANEFVANKNKLNDKKKSIFGYEIVKNKRFTVDKYLFKLSMNLNYS QPNNNKIDVNSKVREIISNGGIKNIIGIDRGERNLLYLSLIDLKGNIVM QKSLNILKDDHNAKETDYKGLLTEREGENKEARRNWKKIANIKDLKRGY LSQVVHIISKMMVEYNAIVVLEDLNPGFIRGRQKIERNVYEQFERMLID KLNFYVDKHKGANETGGLLHALQLTSEFKNFKKSEHQNGCLFYIPAWNT SKIDPATGFVNLFNTKYTNAVEAQEFFSKFDEIRYNEEKDWFEFEFDYD KFTQKAHGTRTKWTLCTYGMRLRSFKNSAKQYNWDSEVVALTEEFKRIL GEAGIDIHENLKDAICNLEGKSQKYLEPLMQFMKLLLQLRNSKAGTDED YILSPVADENGIFYDSRSCGDQLPENADANGAYNIARKGLMLIEQIKNA EDLNNVKFDISNKAWLNFAQQKPYKNG
ART11*	36	MYYQGLTKLYPISKTIRNELIPVGKTLEHIRMNNILEADIQRKSDYERV KKLMDDYHKQLINESLQDVHLSYVEEAADLYLNASKDKDIVDKFSKCQD KLRKEIVNLLKSHENFPKIGNKEIIKLLQSLSDTEKDYNALDSFSKFYT YFTSYNEVRKNLYSDEEKSSTAAYRLINENLPKFLDNIKAYSIAKSAGV RAKELTEEEQDCLFMTETFERTLTQDGIDNYNELIGKLNFAINLYNQQN NKLKGFRKVPKMKELYKQILSEREASFVDEFVDDEALLTNVESFSAHIK EFLESDSLSRFAEVLEESGGEMVYIKNDTSKTTFSNIVFGSWNVIDERL AEEYDSANSKKKKDEKYYDKRHKELKKNKSYSVEKIVSLSTETEDVIGK

【０１８１】

【表９６】

名称	配列番号	アミノ酸配列
		YIEKLQADIIAIKETREVFEKVVLKEHDKNKSLRKNTKAIEAIKSFLDT IKDFERDIKLISGSEHEMEKNLAVYAEQENILSSIRNVDSLYNMSRNYL TQKPFSTEKFKLNFNRATLLNGWDKNKETDNLGILLVKEGKYYLGIMNT KANKSFVNPPKPKTDNVYHKVNYKLLPGPNKMLPKVFFAKSNLEYYKPS EDLLAKYQAGTHKKGENFSLEDCHSLISFFKDSLEKHPDWSEFGFKFSD TKKYDDLSGFYREVEKQGYKITYTDIDVEYIDSLVEKDELYFFQIYNKD FSPYSKGNYNLHTLYLTMLFDERNLRNVVYKLNGEAEVFYRPASIGKDE LIIHKSGEEIKNKNPKRAIDKPTSTFEYDIVKDRRYTKDKFMLHIPVTM NFGVDETRRFNEVVNDAIRGDDKVRVIGIDRGERNLLYVVVVDSDGTIL EQISLNSIINNEYSIETDYHKLLDEKEGDRDRARKNWTTIENIKELKEG YLSQVVNVIAKLVLKYDAIICLEDLNFGFKRGRQKVEKQVYQKFEKMLI DKLNYLVIDKSRSQENPEEVGHVLNALQLTSKFTSFKELGKQTGIIYYV PAYLTSKIDPTTGFANLFYVKYESVEKSKDFFNRFDSICFNKVAGYFEF SFDYKNFTDRACGMRSKWKVCTNGERIIKYRNEEKNSSFDDKVIVLTEE FKKLFNEYGIAFNDCMDLTDAINAIDDASFFRKLTKLFQQTLQMRNSSA DGSRDYIISPVENDNGEFFNSEKCDKSKPKDADANGAFNIARKGLWVLE QLYNSSSGEKLNLAMTNAEWLEYAQQHTI

【０１８２】

特定の実施形態において、Ｃａｓヌクレアーゼは、ＡＢＷ１（配列番号３）、ＡＢＷ２（配列番号１６）、ＡＢＷ３（配列番号２９）、ＡＢＷ４（配列番号４２）、ＡＢＷ５（配列番号５５）、ＡＢＷ６（配列番号６８）、ＡＢＷ７（配列番号８１）、ＡＢＷ８（配列番号９４）、又はＡＢＷ９（配列番号１０７）（国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１０８３２４号パンフレットからのＡＢＷ１～９の全ての配列番号及びその変異体）、又はそれらの変異体、例えば、ＡＢＷ１の変異体１～１０（それぞれ配列番号４～１３）のいずれか１つ、ＡＢＷ２の変異体１～１０（それぞれ配列番号１７～２６）のいずれか１つ、ＡＢＷ３の変異体１～１０（それぞれ配列番号３０～３９）のいずれか１つ、ＡＢＷ４の変異体１～１０（それぞれ配列番号４３～５２）のいずれか１つ、ＡＢＷ５の変異体１～１０（それぞれ配列番号５６～６５）のいずれか１つ、ＡＢＷ６の変異体１～１０（それぞれ配列番号６９～７８）のいずれか１つ、ＡＢＷ７の変異体１～１０（それぞれ配列番号８２～９１）のいずれか１つ、ＡＢＷ８の変異体１～１０（それぞれ配列番号９５～１０４）のいずれか１つ、ＡＢＷ９の変異体１～１０（それぞれ配列番号１０８～１１７）のいずれか１つを含む。ＡＢＷ１～ＡＢＷ９、及びその変異体は、当該技術分野において公知であり、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０２１／１０８３２４号パンフレットに記載されている。

【０１８３】

さらなるＶ－Ａ型Ｃａｓヌクレアーゼおよびそれらの対応する天然ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、例えば、米国特許第９，７９０，４９０号明細書及びＳｈｍａｋｏｖ　ｅｔａｌ．（２０１５）ＭＯＬ．ＣＥＬＬ，６０：３８５に記載されるような、当該技術分野において公知の計算及び実験方法によって同定され得る。例示的な計算方法としては、ホモロジーモデリング、構造的ＢＬＡＳＴ、ＰＳＩ－ＢＬＡＳＴ、又はＨＨＰｒｅｄによる推定的Ｃａｓタンパク質の分析、及びＣＲＩＳＰＲアレイの同定による推定的ＣＲＩＳＰ

Ｒ遺伝子座の分析が挙げられる。例示的な実験方法としては、Ｚｅｔｓｃｈｅ　ｅｔ　ａｌ．（２０１５）ＣＥＬＬ，１６３：７５９に記載されるような、インビトロ切断アッセイ及び細胞内ヌクレアーゼアッセイ（例えば、Ｓｕｒｖｅｙｏｒアッセイ）が挙げられる。

【０１８４】

特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、標的遺伝子座における一方又は両方の鎖、例えば、標的鎖（すなわち、シングルガイド核酸又はデュアルガイド核酸に少なくとも部分的に相補的であり、それとハイブリダイズし得る標的ヌクレオチド配列を有する鎖）及び／又は非標的鎖の切断を指向するＣａｓヌクレアーゼである。特定の実施形態において、Ｃａｓヌクレアーゼは、標的ヌクレオチド配列又はその相補配列の最初又は最後のヌクレオチドから約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、５０、１００、２００、５００、又はそれ以上のヌクレオチド以内の一方又は両方の鎖の切断を指向する。特定の実施形態において、切断は、互い違いであり、すなわち、粘着末端を生成する。特定の実施形態において、切断は、５’オーバーハングを有する互い違いの切断を生成する。特定の実施形態において、切断は、１～５つのヌクレオチド、例えば、４又は５つのヌクレオチドの５’オーバーハングを有する互い違いの切断を生成する。特定の実施形態において、切断部位は、ＰＡＭから離れており、例えば、切断は、非標的鎖上の１８番目のヌクレオチドの後及び標的鎖上の２３番目のヌクレオチドの後に存在する。

【０１８５】

特定の実施形態において、本明細書において提供される組成物は、適合性ガイド核酸（ｇＮＡ）、例えば、ｇＲＮＡが活性化することが可能なＣａｓヌクレアーゼを含む。特定の実施形態において、本明細書において提供される組成物は、適合性ガイド核酸（ｇＮＡ）、例えば、ｇＲＮＡが活性化することが可能なＣａｓヌクレアーゼに関連するＣａｓタンパク質をさらに含む。例えば、特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、Ｃａｓヌクレアーゼアミノ酸配列と少なくとも８０％（例えば、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、又は少なくとも９９％）同一であるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、Ｃａｓヌクレアーゼのヌクレアーゼ不活性突然変異体を含む。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、エフェクタードメインをさらに含む。

【０１８６】

特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、実質的に全てのＤＮＡ切断活性を欠いている。このようなＣａｓタンパク質は、例えば、１つ以上の突然変異を、活性Ｃａｓヌクレアーゼ（例えば、天然Ｃａｓヌクレアーゼ）に導入することによって生成され得る。突然変異されたＣａｓタンパク質は、タンパク質のＤＮＡ切断活性が、対応する非突然変異形態のＤＮＡ切断活性の約２５％、１０％、５％、１％、０．１％、０．０１％以下、又はそれ以下、例えば、非突然変異形態と比較して皆無又はごくわずかである場合、実質的に全てのＤＮＡ切断活性を欠いていると見なされる。したがって、Ｃａｓタンパク質は、１つ以上の突然変異（例えば、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質のＲｕｖＣドメインにおける突然変異）を含んでもよく、エフェクタードメインへの融合を伴うか又は伴わずに一般的ＤＮＡ結合タンパク質として使用され得る。例示的な突然変異としては、ＡｓＣｐｆ１におけるアミノ酸位置に関してＤ９０８Ａ、Ｅ９９３Ａ、及びＤ１２６３Ａ；ＬｂＣｐｆ１におけるアミノ酸位置に関してＤ８３２Ａ、Ｅ９２５Ａ、及びＤ１１８０Ａ；並びにＦｎＣｐｆ１のアミノ酸位置ナンバリングに関してＤ９１７Ａ、Ｅ１００６Ａ、及びＤ１２５５Ａが挙げられる。さらなる突然変異が、Ｙａｍａｎｏ　ｅｔ　ａｌ．（２０１６）ＣＥＬＬ，１６５：９４９に記載される結晶構造に従って、設計され、生成され得る。

【０１８７】

Ｃａｓタンパク質が、全てのＤＮＡを切断するためにヌクレアーゼ活性を失うのではなく、二本鎖ＤＮＡの標的鎖のみ又は非標的鎖のみを切断する能力を失い得、それによって

、ニッカーゼとして機能的であることが理解される（Ｇａｏ　ｅｔ　ａｌ．（２０１６）ＣＥＬＬ　ＲＥＳ．，２６：９０１を参照）。したがって、特定の実施形態において、Ｃａｓヌクレアーゼは、Ｃａｓニッカーゼである。特定の実施形態において、Ｃａｓヌクレアーゼは、非標的鎖を切断する活性を有するが、例えば、Ｎｕｃドメインにおける突然変異によって、標的鎖を切断する活性を実質的に欠いている。特定の実施形態において、Ｃａｓヌクレアーゼは、標的鎖を切断する切断活性を有するが、非標的鎖を切断する活性を実質的に欠いている。

【０１８８】

特定の実施形態において、Ｃａｓヌクレアーゼは、二本鎖ＤＮＡを切断する活性を有し、二本鎖切断をもたらす。

【０１８９】

実質的に全てのＤＮＡ切断活性を欠き、又は１つのみの鎖を切断する能力を有するＣａｓタンパク質はまた、天然システムから同定され得る。例えば、特定の天然ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、標的ヌクレオチド配列に結合する能力を保持し得るが、真核生物（例えば、哺乳動物又はヒト）細胞における全体的又は部分的なＤＮＡ切断活性を失う。このようなＶ－Ａ型タンパク質が、例えば、Ｋｉｍ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＡＣＳ　ＳＹＮＴＨ．ＢＩＯＬ．６（７）：１２７３－８２及びＺｈａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＣＥＬＬ　ＤＩＳＣＯＶ．３：１７０１８に開示されている。

【０１９０】

Ｃａｓタンパク質（例えば、Ｃａｓヌクレアーゼ）の活性は、例えば、操作されたＣａｓタンパク質を生成することによって、改変され得る。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質の改変された活性は、増加した標的化効率及び／又は減少したオフターゲット結合を含む。理論によって制約されるのを望むものではないが、オフターゲット結合が、例えば、スペーサー配列と標的ヌクレオチド配列との間の１つ以上のミスマッチの存在によって、Ｃａｓタンパク質によって認識され得、それが、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ複合体の安定性及び／又は立体配座に影響を与え得ると仮定される。特定の実施形態において、改変された活性は、修飾された結合、例えば、標的遺伝子座（例えば、標的鎖若しくは非標的鎖）への増加した結合及び／又はオフターゲット遺伝子座への減少した結合を含む。特定の実施形態において、改変された活性は、シングルガイド核酸又はデュアルガイド核酸に関連するタンパク質の領域における改変された電荷を含む。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質の改変された活性は、標的鎖及び／又は非標的鎖に関連するタンパク質の領域における改変された電荷を含む。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質の改変された活性は、オフターゲット遺伝子座に関連するタンパク質の領域における改変された電荷を含む。改変された電荷は、減少した正電荷、減少した負電荷、増加した正電荷、又は増加した負電荷を含み得る。例えば、減少した負電荷及び増加した正電荷は、一般に、核酸への結合を強化し得る一方、減少した正電荷及び増加した負電荷は、核酸への結合を弱め得る。特定の実施形態において、改変された活性は、タンパク質とシングルガイド核酸又はデュアルガイド核酸との間の増加又は減少した立体障害を含む。特定の実施形態において、改変された活性は、タンパク質と標的鎖及び／又は非標的鎖との間の増加又は減少した立体障害を含む。特定の実施形態において、改変された活性は、タンパク質とオフターゲット遺伝子座との間の増加又は減少した立体障害を含む。特定の実施形態において、修飾又は突然変異は、Ｌｙｓ、Ｈｉｓ、Ａｒｇ、Ｇｌｕ、Ａｓｐ、Ｓｅｒ、Ｇｌｙ、及び／又はＴｈｒの１つ以上の置換を含む。特定の実施形態において、修飾又は突然変異は、Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ｉｌｅ、Ｇｌｕ、及び／又はＡｓｐによる１つ以上の置換を含む。特定の実施形態において、修飾又は突然変異は、Ｃａｓタンパク質（例えば、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質）のＷＥＤ及びＲｕｖＣドメインの間の溝における１つ以上のアミノ酸置換を含む。

【０１９１】

特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質の改変された活性は、標的遺伝子座を切断する増加したヌクレアーゼ活性を含む。特定の実施形態において、操作された

Ｃａｓタンパク質の改変された活性は、オフターゲット遺伝子座を切断する減少したヌクレアーゼ活性を含む。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質の改変された活性は、改変されたヘリカーゼ反応速度を含む。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質は、ＣＲＩＳＰＲ複合体の形成を改変する修飾を含む。

【０１９２】

特定の実施形態において、プロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）又はＰＡＭ様モチーフは、標的遺伝子座へのＣａｓタンパク質複合体の結合を指向する。多くのＣａｓタンパク質は、ＰＡＭ特異性を有する。ＰＡＭの正確な配列及び長さ要件は、使用されるＣａｓタンパク質に応じて異なる。ＰＡＭ配列は、典型的に、２～５つの塩基対の長さであり、標的ヌクレオチド配列に隣接している（ただし、標的ＤＮＡにおける、標的ヌクレオチド配列と異なる鎖に位置する）。ＰＡＭ配列は、任意の好適な方法、例えば、切断の試験、標的化、又は標的ヌクレオチド配列及び異なるＰＡＭ配列を有するオリゴヌクレオチドの修飾を用いて同定され得る。

【０１９３】

例示的なＰＡＭ配列が、表２及び３に示される。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、ＭＡＤ７を含み、ＰＡＭは、ＴＴＴＮであり、ここで、Ｎが、Ａ、Ｃ、Ｇ、又はＴである。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、ＭＡＤ７を含み、ＰＡＭは、ＣＴＴＮであり、ここで、Ｎが、Ａ、Ｃ、Ｇ、又はＴである。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、ＡｓＣｐｆ１を含み、ＰＡＭは、ＴＴＴＮであり、ここで、Ｎが、Ａ、Ｃ、Ｇ、又はＴである。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、ＦｎＣｐｆ１を含み、ＰＡＭは、５’ＴＴＮであり、ここで、Ｎが、Ａ、Ｃ、Ｇ、又はＴである。特定の他のＶ－Ａ型Ｃａｓタンパク質のＰＡＭ配列が、Ｚｅｔｓｃｈｅ　ｅｔ　ａｌ．（２０１５）ＣＥＬＬ，１６３：７５９及び米国特許第９，９８２，２７９号明細書に開示されている。さらに、Ｃａｓタンパク質のＰＡＭ相互作用（ＰＩ）ドメインの操作は、ＰＡＭ特異性のプログラミングを可能にし、標的部位認識忠実度を改善し、及び／又は操作された非天然システムの汎用性を増加させ得る。Ｃｐｆ１のＰＡＭ特異性を改変するための例示的な手法が、Ｇａｏ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＮＡＴ．ＢＩＯＴＥＣＨＮＯＬ．，３５：７８９に記載されている。

【０１９４】

特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質は、標的化範囲に対する修飾と連携してＣａｓタンパク質特異性を改変する修飾を含む。Ｃａｓ突然変異体は、例えば、ＰＡＭ特異性（例えば、ＰＩドメイン中）を改変する突然変異を選択し、それらの突然変異を、オフターゲット遺伝子座と比べてオンターゲット遺伝子座に対する特異性を増加させる（又は必要に応じて、減少させる）溝突然変異と組み合わせることによって、増加した標的特異性並びにＰＡＭ認識における対応する修飾を有するように設計され得る。本明細書に記載されるＣａｓ修飾を用いて、ＰＡＭ認識の改変に起因する特異性の低下を抑えるか、ＰＡＭ認識の改変に起因する特異性の増加を強化するか、ＰＡＭ認識の改変に起因する特異性の増加を抑えるか、又はＰＡＭ認識の改変に起因する特異性の低下を強化することができる。

【０１９５】

特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質は、１つ以上の核局在化シグナル（ＮＬＳ）モチーフを含む。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質は、少なくとも２つ（例えば、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、又は少なくとも１０）のＮＬＳモチーフを含む。ＮＬＳモチーフの非限定的な例は、以下を含む：ＰＫＫＫＲＫＶ（配列番号４０）のアミノ酸配列を有する、ＳＶ４０ラージＴ抗原のＮＬＳ；ＫＲＰＡＡＴＫＫＡＧＱＡＫＫＫＫ（配列番号４１）のアミノ酸配列を有する、核質からのＮＬＳ、例えば、核質双節型ＮＬＳ；ＰＡＡＫＲＶＫＬＤ（配列番号４２）又はＲＱＲＲＮＥＬＫＲＳＰ（配列番号４３）のアミノ酸配列を有するＣ－ｍｙｃ　ＮＬＳ；ＮＱＳＳＮＦＧＰＭＫＧＧＮＦＧＧＲＳＳＧＰＹＧＧＧＧＱＹＦＡＫＰＲＮＱＧＧＹ（配列番号４４）のア

ミノ酸配列を有するｈＲＮＰＡ１　Ｍ９　ＮＬＳ；ＲＭＲＩＺＦＫＮＫＧＫＤＴＡＥＬＲＲＲＶＥＶＳＶＥＬＲＫＡＫＫＤＥＱＩＬＫＲＲＮＶ（配列番号４５）のアミノ酸配列を有するインポーチン－α　ＩＢＢドメインＮＬＳ；ＶＳＲＫＲＰＲＰ（配列番号４６）又はＰＰＫＫＡＲＥＤ（配列番号４７）のアミノ酸配列を有する筋腫Ｔタンパク質ＮＬＳ；ＰＱＰＫＫＫＰＬ（配列番号４８）のアミノ酸配列を有するヒトｐ５３　ＮＬＳ；ＳＡＬＩＫＫＫＫＭＡＰ（配列番号４９）のアミノ酸配列を有するマウスＣ－ａｂｌ　ＩＶＮＬＳ；ＤＲＬＲＲ（配列番号５０）又はＰＫＱＫＫＲＫ（配列番号５１）のアミノ酸配列を有する、インフルエンザウイルスＮＳ１　ＮＬＳ；ＲＫＬＫＫＫＩＫＫＬ（配列番号５２）のアミノ酸配列を有する、肝炎ウイルスδ抗原ＮＬＳ；ＲＥＫＫＫＦＬＫＲＲ（配列番号５３）のアミノ酸配列を有する、マウスＭｘ１タンパク質ＮＬＳ；ＫＲＫＧＤＥＶＤＧＶＤＥＶＡＫＫＫＳＫＫ（配列番号５４）のアミノ酸配列を有する、ヒトポリ（ＡＤＰ－リボース）ポリメラーゼＮＬＳ；ＲＫＣＬＱＡＧＭＮＬＥＡＲＫＴＫＫ（配列番号５５）のアミノ酸配列を有するヒトグルココルチコイド受容体ＮＬＳ、及びＰＡＡＫＫＫＫＬＤ（配列番号５６）などの合成ＮＬＳモチーフ。

【０１９６】

一般に、１つ以上のＮＬＳモチーフは、真核細胞の核内で検出可能な量のＣａｓタンパク質の蓄積を促すのに十分な強度のものである。核局在化活性の強度は、Ｃａｓタンパク質におけるＮＬＳモチーフ、使用される特定のＮＬＳモチーフの数、ＮＬＳモチーフの位置、又はこれらの及び／若しくは他の要因の組合せにより得る。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質は、Ｎ末端において又はその近くに（例えば、Ｎ末端からポリペプチド鎖に沿って約１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、又はそれ以上のアミノ酸以内に）少なくとも１つ（例えば、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、又は少なくとも１０）のＮＬＳモチーフを含む。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質は、Ｃ末端において又はその近くに（例えば、Ｃ末端からポリペプチド鎖に沿って、約１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、又はそれ以上のアミノ酸以内に）少なくとも１つ（例えば、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、又は少なくとも１０）のＮＬＳモチーフを含む。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質は、Ｃ末端において又はその近くに少なくとも１つ（例えば、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、又は少なくとも１０）のＮＬＳモチーフ及びＮ末端において又はその近くに少なくとも１つ（例えば、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、又は少なくとも１０）のＮＬＳモチーフを含む。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質は、Ｃ末端において若しくはその近くに１つ、２つ、又は３つのＮＬＳモチーフを含む。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質は、Ｎ末端において若しくはその近くに１つのＮＬＳモチーフ及びＣ末端において若しくはその近くに１つ、２つ、又は３つのＮＬＳモチーフを含む。特定の実施形態において、操作されたＣａｓタンパク質は、Ｃ末端において若しくはその近くに核質ＮＬＳを含む。

【０１９７】

核における蓄積の検出は、任意の好適な技術によって行われ得る。例えば、細胞内の位置が視覚化され得るように、検出可能なマーカーが、核酸標的化タンパク質に融合され得る。細胞核はまた、細胞から単離され得、次に、その内容物が、タンパク質を検出するための任意の好適なプロセス、例えば、免疫組織化学、ウエスタンブロット、又は酵素活性アッセイによって分析され得る。核における蓄積はまた、Ｃａｓタンパク質に曝されないか又はＮＬＳモチーフの１つ以上を欠くＣａｓタンパク質に曝された対照と比較した、Ｃａｓタンパク質複合体の核内への輸送の影響を検出するアッセイ（例えば、標的遺伝子座におけるＤＮＡ切断若しくは突然変異についてのアッセイ、又は改変された遺伝子発現活

性についてのアッセイ）などによって、間接的に決定され得る。
【０１９８】
Ｃａｓタンパク質は、キメラＣａｓタンパク質、例えば、キメラであることによって強化された機能を有するＣａｓタンパク質を含み得る。キメラＣａｓタンパク質は、２つ以上の天然Ｃａｓタンパク質又はその変異体からの断片を含有する新しいＣａｓタンパク質であり得る。例えば、複数のＶ－Ａ型Ｃａｓホモログ（例えば、オルソログ）の断片が、融合されて、キメラＣａｓタンパク質を形成し得る。特定の実施形態において、キメラＣａｓタンパク質は、複数の種及び／又は株からのＣｐｆ１オルソログの断片を含む。
【０１９９】
特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、１つ以上のエフェクタードメインを含む。１つ以上のエフェクタードメインは、Ｃａｓタンパク質のＮ末端において若しくはその近くに、及び／又はＣａｓタンパク質のＣ末端において若しくはその近くに位置し得る。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質に含まれるエフェクタードメインは、転写活性化ドメイン（例えば、ＶＰ６４）、転写抑制ドメイン（例えば、ＫＲＡＢドメイン又はＳＩＤドメイン）、外因性ヌクレアーゼドメイン（例えば、ＦｏｋＩ）、デアミナーゼドメイン（例えば、シチジンデアミナーゼ又はアデニンデアミナーゼ）、又は逆転写酵素ドメイン（例えば、高い忠実度逆転写酵素ドメイン）である。エフェクタードメインの他の活性としては、限定はされないが、メチラーゼ活性、デメチラーゼ活性、転写放出因子活性、翻訳開始活性、翻訳活性化活性、翻訳抑制活性、ヒストン修飾（例えば、アセチル化又は脱メチル化）活性、一本鎖ＲＮＡ切断活性、二本鎖ＲＮＡ切断活性、一本鎖ＤＮＡ切断活性、二本鎖ＤＮＡ切断活性、及び核酸結合活性が挙げられる。
【０２００】
特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、相同組換え修復（ＨＤＲ）を強化し、及び／又は非相同末端結合（ＮＨＥＪ）を阻害する１つ以上のタンパク質ドメインを含む。このような機能を有する例示的なタンパク質ドメインは、Ｊａｙａｖａｒａｄｈａｎ ｅｔ ａｌ．（２０１９）ＮＡＴ．ＣＯＭＭＵＮ．１０（１）：２８６６及びＪａｎｓｓｅｎ ｅｔ ａｌ．（２０１９）ＭＯＬ．ＴＨＥＲ．ＮＵＣＬＥＩＣ ＡＣＩＤＳ １６：１４１－５４に記載されている。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、ｐ５３－結合タンパク質１（５３ＢＰ１）のドミナントネガティブ型、例えば、最小フォーカス形成領域（例えば、ヒト５３ＢＰ１のアミノ酸１２３１～１６４４）を含む５３ＢＰ１の断片を含む。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、ＡＰＣ－Ｃｄｈ１によって標的化されるモチーフ、例えば、ヒトジェミニンのアミノ酸１～１１０を含み、それによって、細胞周期のＨＤＲ非許容Ｇ１期中に融合タンパク質の分解をもたらす。
【０２０１】
特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、誘導性又は制御性ドメインを含む。誘導因子又は制御因子の非限定的な例としては、光、ホルモン、及び小分子薬が挙げられる。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、光誘導性又は制御性ドメインを含む。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、化学薬品誘導性又は制御性ドメインを含む。
【０２０２】
特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、追跡及び／又は精製を容易にするためにタグタンパク質又はペプチドを含む。タグタンパク質及びペプチドの非限定的な例としては、蛍光タンパク質（例えば、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、ＹＦＰ、ＲＦＰ、ＣＦＰ、ｍＣｈｅｒｒｙ、ｔｄＴｏｍａｔｏ）、ＨＩＳタグ（例えば、６×Ｈｉｓタグ、又はｇｌｙ－６ｘＨｉｓ；８ｘＨｉｓ、又はｇｌｙ－８ｘＨｉｓ）、赤血球凝集素（ＨＡ）タグ、ＦＬＡＧタグ、３ｘＦＬＡＧタグ、及びＭｙｃタグが挙げられる。
【０２０３】
特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、非タンパク質部分、例えば、ゲノムイメージングに有用なフルオロフォアにコンジュゲートされる。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、非タンパク質部分に共有結合によりコンジュゲートされる。「ＣＲ

ＩＳＰＲ関連タンパク質」、「Ｃａｓタンパク質」、「Ｃａｓ」、「ＣＲＩＳＰＲ関連ヌクレアーゼ」、及び「Ｃａｓヌクレアーゼ」という用語は、本明細書において、１つ以上の非タンパク質部分の存在にかかわらずこのようなコンジュゲートを含むように使用される。

【０２０４】

Ｂ．ガイド核酸

ガイド核酸は、ｇＮＡが単一のポリヌクレオチドである単一のｇＮＡ（ｓｇＮＡ、例えば、ｓｇＲＮＡ）、又は、ｇＮＡが２つの別個のポリヌクレオチド（これらは、ある場合に、共有結合され得るが、従来のヌクレオチド間結合を介さない）を含むデュアルｇＮＡ（例えば、デュアルｇＲＮＡ）であり得る。特定の実施形態において、シングルガイド核酸は、単独で（例えば、ｔｒａｃｒＲＮＡの非存在下で）Ｃａｓヌクレアーゼを活性化することが可能である。

【０２０５】

一般に、ｇＮＡは、モジュレーター核酸及びターゲッター核酸を含む。ｓｇＮＡにおいて、モジュレーター及びターゲッター核酸は、単一のポリヌクレオチドの一部である。デュアルｇＮＡにおいて、モジュレーター及びターゲッター核酸は、別個であり、例えば、従来のヌクレオチド結合によって結合されず、例えば、全く結合されない。ターゲッター核酸は、スペーサー配列及びターゲッターステム配列を含む。モジュレーター核酸は、モジュレーターステム配列及び、一般に、さらに、ヌクレオチド、例えば、５’テールを含むヌクレオチドを含む。モジュレーターステム配列及びターゲッターステム配列はそれぞれ、任意の好適な数のヌクレオチドを含むことができ、それらがハイブリダイズし得るのに十分な相補性を有する。単一のｇＮＡにおいて、ターゲッターステム配列とモジュレーターステム配列との間にさらなるＮＴが存在してもよく；これらは、ある場合に、ループなどの二次構造を形成し得る。

【０２０６】

特定の実施形態において、ガイド核酸は、モジュレーター核酸と組み合わせて、Ｃａｓタンパク質に結合することが可能であるターゲッター核酸を含む。特定の実施形態において、ガイド核酸は、モジュレーター核酸と組み合わせて、Ｃａｓヌクレアーゼを活性化することが可能であるターゲッター核酸を含む。特定の実施形態において、システムは、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸が結合することが可能であるＣａｓタンパク質又はターゲッター核酸及びモジュレーター核酸が活性化することが可能であるＣａｓヌクレアーゼをさらに含む。

【０２０７】

シングル又はデュアルガイド核酸が、操作的ＣＲＩＳＰＲシステムを提供するためにＣａｓタンパク質（例えば、Ｃａｓヌクレアーゼ）と適合する必要があると考えられる。例えば、ターゲッターステム配列及びモジュレーターステム配列は、ｔｒａｃｒＲＮＡの非存在下でＣａｓヌクレアーゼを活性化することが可能な天然ｃｒＲＮＡに由来し得る。或いは、ターゲッターステム配列及びモジュレーターステム配列は、Ｃａｓヌクレアーゼを活性化することが可能であるｃｒＲＮＡ及びｔｒａｃｒＲＮＡのそれぞれの天然の組に由来し得る。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列及びモジュレーターステム配列のヌクレオチド配列は、このような天然ｃｒＲＮＡにおけるステム－ループ構造の対応するステム配列と同一である。

【０２０８】

ＩＩ型又はＶ型Ｃａｓタンパク質と作用するガイド核酸配列は、当該技術分野において公知であり、例えば、米国特許第９，７９０，４９０号明細書、同第９，８９６，６９６号明細書、同第１０，１１３，１７９号明細書、及び同第１０，２６６，８５０号明細書、並びに米国特許出願公開第２０１４／０２４２６６４号明細書に開示されている。これらの配列が、例示的なものであるに過ぎず、他のガイド核酸配列も、これらのＣａｓタンパク質とともに使用され得ることが理解される。

【０２０９】

【表９７】

表4: V-A型Casタンパク質及び対応するシングルガイド核酸配列

Casタンパク質	足場配列[1]	PAM[2]
MAD7 （配列番号37）	UAAUUUCUACUCUUGUAGA （配列番号57）， AUCUACAACAGUAGA （配列番号58）， AUCUACAAAAGUAGA （配列番号59）， GGAAUUUCUACUCUUGUAGA （配列番号60）， UAAUUCCCACUCUUGUGGG （配列番号61）	5’ TTTN 又は5’ NTTN
MAD2 配列番号38）	AUCUACAAGAGUAGA （配列番号62）， AUCUACAACAGUAGA （配列番号58）， AUCUACAAAAGUAGA （配列番号59）， AUCUACACUAGUAGA （配列番号63）	5’ TTTN
AsCpf1 (国際公開第2021／158918号パンフレットの配列番号3)	UAAUUUCUACUCUUGUAGA （配列番号57）	5’ TTTN
LbCpf1 (国際公開第2021／158918号パンフレットの配列番号4)	UAAUUUCUACUAAGUGUAGA （配列番号64）	5’ TTTN
FnCpf1 (国際公開第2021／158918号パンフレットの配列番号5)	UAAUUUUCUACUUGUUGUAGA （配列番号65）	5’ TTN

【０２１０】

【表９８】

Casタンパク質	足場配列[1]	PAM[2]
PbCpf1 (国際公開第2021／158918号パンフレットの配列番号6)	AAUUUCUACUGUUGUAGA (配列番号66)	5′ TTTC
PsCpf1 (国際公開第2021／158918号パンフレットの配列番号7)	AAUUUCUACUGUUGUAGA (配列番号66)	5′ TTTC
As2Cpf1 (国際公開第2021／158918号パンフレットの配列番号8)	AAUUUCUACUGUUGUAGA (配列番号66)	5′ TTTC
McCpf1 (国際公開第2021／158918号パンフレットの配列番号9)	GAAUUUCUACUGUUGUAGA (配列番号67)	5′ TTTC
Lb3Cpf1 (国際公開第2021／158918号パンフレットの配列番号10)	GAAUUUCUACUGUUGUAGA (配列番号67)	5′ TTTC
EcCpf1 (国際公開第2021／158918号パンフレットの配列番号11)	GAAUUUCUACUGUUGUAGA (配列番号67)	5′ TTTC
SmCsm1 (国際公開第2021／158918号パンフレットの配列番号12)	GAAUUUCUACUGUUGUAGA (配列番号67)	5′ TTTC
SsCsm1 (国際公開第2021／158918号パンフレットの配列番号13)	GAAUUUCUACUGUUGUAGA (配列番号67)	5′ TTTC
MbCsm1 (国際公開第2021／	GAAUUUCUACUGUUGUAGA (配列番号67)	5′ TTTC

【０２１１】

【表９９】

Casタンパク質	足場配列[1]	PAM[2]
158918号パンフレットの配列番号14)		
ART2 (配列番号2	GUCUAAAGGUACCACCAAAUUUCUACUGUUGUAGAU (配列番号68)	5'TTTN又は5'NTTN
ART11 (配列番号11	GCUUAGAACCUUUAAAUAAUUUCUACUAUUGUAGAU (配列番号69)	5'TTTN又は5'NTTN
ART11* (配列番号36	GCUUAGAACCUUUAAAUAAUUUCUACUAUUGUAGAU (配列番号69)	5'TTTN又は5'NTTN

[1] 足場配列中のモジュレーター配列には、下線が引かれており; 足場配列中のターゲッターステム配列には、太字下線が引かれている。本明細書に列挙される「足場配列」が、シングルガイド核酸の一部を構成することが理解される。スペーサー配列以外のさらなるヌクレオチド配列が、シングルガイド核酸に含まれ得る。

[2] コンセンサスPAM配列において、Nが、A、C、G、又はTを表す。PAM配列の前に「5」がある場合、PAMが、配位として非標的鎖（すなわち、スペーサー配列とハイブリダイズしない鎖）を使用するとき、標的ヌクレオチド配列のすぐ上流に位置することを意味する。

【０２１２】

【表１００】

表5: V-A型Casタンパク質及び対応するデュアルガイド核酸配列

Casタンパク質	モジュレーター配列[1]	ターゲッターステム配列	PAM[2]
MAD7 (配列番号37)	UAAUUUCUAC (配列番号70)	GUAGA	5'TTTN又は5'CTTN
	AUCUAC (配列番号71)	GUAGA	
	GGAAUUUCUAC (配列番号72)	GUAGA	
	UAAUUCCCAC (配列番号73)	GUGGG	
MAD2 (配列番号38)	AUCUAC (配列番号71)	GUAGA	5′ TTTN

【０２１３】

【表１０１】

AsCpf1 (国際公開第2021/158918号 パンフレットの配列番号3)	UAAUUUCUAC (配列番号 70)	GUAGA	5′ TTTN
LbCpf1 (国際公開第2021/158918号 パンフレットの配列番号4)	UAAUUUCUAC (配列番号 70)	GUAGA	5′ TTTN
FnCpf1 (国際公開第2021/158918号 パンフレットの配列番号5)	UAAUUUUCUACU (配列番号 74)	GUAGA	5′ TTN
PbCpf1 (国際公開第2021/158918号 パンフレットの配列番号6)	AAUUUCUAC (配列番号75)	GUAGA	5′ TTTC
PsCpf1 (国際公開第2021/158918号 パンフレットの配列番号7)	AAUUUCUAC (配列番号75)	GUAGA	5′ TTTC
As2Cpf1 (国際公開第2021/158918号 パンフレットの配列番号8)	AAUUUCUAC (配列番号75)	GUAGA	5′ TTTC
McCpf1 (国際公開第2021/158918号 パンフレットの配列番号9)	GAAUUUCUAC (配列番号 76)	GUAGA	5′ TTTC
Lb3Cpf1 (国際公開第2021/158918号 パンフレットの配列番号10)	GAAUUUCUAC (配列番号 76)	GUAGA	5′ TTTC
EcCpf1 (国際公開第2021/158918号 パンフレットの配列番号11)	GAAUUUCUAC (配列番号 76)	GUAGA	5′ TTTC
SmCsm1 (国際公開第2021/158918号 パンフレットの配列番号12)	GAAUUUCUAC (配列番号 76)	GUAGA	5′ TTTC
SsCsm1 (国際公開第2021/158918号 パンフレットの配列番号13)	GAAUUUCUAC (配列番号 76)	GUAGA	5′ TTTC

【０２１４】

【表１０２】

MbCsm1 (国際公開第2021/158918号パンフレットの配列番号14)	GAAUUUCUAC (配列番号76)	GUAGA	5′ TTTC
ART2 (配列番号 2)	AAAUUUCUAC (配列番号77)	GUAGA	5’TTTN又は5’NTTN
ART11 (配列番号11)	UAAUUUCUAC (配列番号70)	GUAGA	5’TTTN又は5’NTTN
ART11* (配列番号36)	UAAUUUCUAC (配列番号70)	GUAGA	5’TTTN又は5’NTTN

[1]本明細書に列挙される「モジュレーター配列」が、モジュレーター核酸のヌクレオチド配列を構成し得ることが理解される。或いは、さらなるヌクレオチド配列が、本明細書に列挙される「モジュレーター配列」に対して5’及び／又は3’側でモジュレーター核酸に含まれ得る。

[2]コンセンサスPAM配列において、Nが、A、C、G、又はTを表す。PAM配列の前に「5」がある場合、PAMが、配位として非標的鎖（すなわち、スペーサー配列とハイブリダイズしない鎖）を使用するとき、標的ヌクレオチド配列のすぐ上流に位置することを意味する。

【０２１５】

特定の実施形態において、ガイド核酸が、Ｖ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムに関して、表５に列挙されるターゲッターステム配列を含む。足場配列の一部と同じターゲッターステム配列には、表４中で太字下線が引かれている。

【０２１６】

特定の実施形態において、ガイド核酸が、５’から３’に、モジュレーターステム配列、ループ配列、ターゲッターステム配列、及びスペーサー配列を含むシングルガイド核酸である。特定の実施形態において、シングルガイド核酸中のターゲッターステム配列は、足場配列の太字下線が引かれた部分として表４中に列挙され、モジュレーターステム配列は、ターゲッターステム配列に相補的である（例えば、１００％相補的である）。特定の実施形態において、シングルガイド核酸は、５’から３’に、足場配列の下線が引かれた部分として表４中に列挙されるモジュレーター配列、ループ配列、同じ足場配列の太字下線が引かれた部分であるターゲッターステム配列、及びスペーサー配列を含む。特定の実施形態において、操作された非天然システムは、表４中に列挙される足場配列を含むシングルガイド核酸を含む。特定の実施形態において、システムは、表４の同じ行に列挙される配列番号に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含むＣａｓタンパク質（例えば、ＣａｓヌクレアーゼＣａｓヌクレアーゼ）をさらに含む。特定の実施形態において、システムは、表４の同じ行に列挙される配列番号に記載されるアミノ酸配列を含むＣａｓタンパク質（例えば、ＣａｓヌクレアーゼＣａｓヌクレアーゼ）をさらに含む。特定の実施形態において、システムは、配位として非標的鎖（すなわち、スペーサー配列とハイブリダイズしない鎖）を使用するとき、表４の同じ行に列挙されるＰＡＭの近くに又はそれに隣接して（例えば、そのすぐ下流に）標的ヌクレオチド配列を含む核酸を標的化、編集、又は修飾するのに有用である。

【０２１７】

特定の実施形態において、ガイド核酸、例えば、デュアルｇＮＡは、５’から３’に、ターゲッターステム配列及びスペーサー配列を含むターゲッターガイド核酸を含む。特定の実施形態において、ターゲッター核酸中のターゲッターステム配列は、表５中に列挙される。特定の実施形態において、操作された非天然システムは、ターゲッターステム配列に相補的な（例えば、１００％相補的な）ターゲッター核酸及びモジュレーターステム配列を含む。特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、表５の同じ行に列挙されるモジュレーター配列を含む。特定の実施形態において、システムは、表５の同じ行に列挙される配列番号に記載されるアミノ酸配列と少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含むＣａｓタンパク質（例えば、Ｃａｓヌクレアーゼ）をさらに含む。特定の実施形態において、システムは、表５の同じ行に列挙される配列番号に記載されるアミノ酸配列を含むＣａｓタンパク質（例えば、ＣａｓヌクレアーゼＣ）をさらに含む。特定の実施形態において、システムは、配位として非標的鎖（すなわち、スペーサー配列とハイブリダイズしない鎖）を使用するとき、表５の同じ行に列挙されるＰＡＭの近くに又はそれに隣接して（例えば、そのすぐ下流に）標的ヌクレオチド配列を含む核酸を標的化、編集、又は修飾するのに有用である。

【０２１８】

シングルガイド核酸、ターゲッター核酸、及び／又はモジュレーター核酸は、生物学的プロセス（例えば、インビトロ反応においてＲＮＡポリメラーゼによって触媒される）において化学的に合成され、又は生成され得る。このような反応又はプロセスは、シングルガイド核酸、ターゲッター核酸、及び／又はモジュレーター核酸の長さを制限し得る。特定の実施形態において、シングルガイド核酸は、１００、９０、８０、７０、６０、５０、４０、３０、又は２５ヌクレオチド長以下である。特定の実施形態において、シングルガイド核酸は、少なくとも２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、又は９０ヌクレオチド長である。特定の実施形態において、シングルガイド核酸は、２０～１００、２０～９０、２０～８０、２０～７０、２０～６０、２０～５０、２０～４０、２０～３０、２０～２５、２５～１００、２５～９０、２５～８０、２５～７０、２５～６０、２５～５０、２５～４０、２５～３０、３０～１００、３０～９０、３０～８０、３０～７０、３０～６０、３０～５０、３０～４０、４０～１００、４０～９０、４０～８０、４０～７０、４０～６０、４０～５０、５０～１００、５０～９０、５０～８０、５０～７０、５０～６０、６０～１００、６０～９０、６０～８０、６０～７０、７０～１００、７０～９０、７０～８０、８０～１００、８０～９０、又は９０～１００ヌクレオチド長である。特定の実施形態において、ターゲッター核酸は、１００、９０、８０、７０、６０、５０、４０、３０、又は２５ヌクレオチド長以下である。特定の実施形態において、ターゲッター核酸は、少なくとも２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、又は９０ヌクレオチド長である。特定の実施形態において、ターゲッター核酸は、２０～１００、２０～９０、２０～８０、２０～７０、２０～６０、２０～５０、２０～４０、２０～３０、２０～２５、２５～１００、２５～９０、２５～８０、２５～７０、２５～６０、２５～５０、２５～４０、２５～３０、３０～１００、３０～９０、３０～８０、３０～７０、３０～６０、３０～５０、３０～４０、４０～１００、４０～９０、４０～８０、４０～７０、４０～６０、４０～５０、５０～１００、５０～９０、５０～８０、５０～７０、５０～６０、６０～１００、６０～９０、６０～８０、６０～７０、７０～１００、７０～９０、７０～８０、８０～１００、８０～９０、又は９０～１００ヌクレオチド長である。特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、１００、９０、８０、７０、６０、５０、４０、３０、又は２０ヌクレオチド長以下である。特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、少なくとも１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、又は９０ヌクレオチド長である。特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、１０～１００、１０～９０、１０～８０、１０～７０、１０～６０、１０～５０、１０～４０、１０～３０、１０～２０、１５～１００、１５～９０、１５～８０、１５～７０、１５～６０、１５～５０、１５～４０、１５～３０、１５～２０、２

０～１００、２０～９０、２０～８０、２０～７０、２０～６０、２０～５０、２０～４０、２０～３０、２５～１００、２５～９０、２５～８０、２５～７０、２５～６０、２５～５０、２５～４０、２５～３０、３０～１００、３０～９０、３０～８０、３０～７０、３０～６０、３０～５０、３０～４０、４０～１００、４０～９０、４０～８０、４０～７０、４０～６０、４０～５０、５０～１００、５０～９０、５０～８０、５０～７０、５０～６０、６０～１００、６０～９０、６０～８０、６０～７０、７０～１００、７０～９０、７０～８０、８０～１００、８０～９０、又は９０～１００ヌクレオチド長である。

【０２１９】

シングルガイド核酸内で形成されるか又はターゲッター核酸とモジュレーター核酸との間、例えば、デュアルｇＮＡ中で形成される二重鎖の長さが、操作的ＣＲＩＳＰＲシステムを提供する際の因子であり得ると考えられる。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列及びモジュレーターステム配列はそれぞれ、互いに塩基対合する４～１０個のヌクレオチドからなる。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列及びモジュレーターステム配列はそれぞれ、互いに塩基対合する４～９、４～８、４～７、４～６、４～５、５～１０、５～９、５～８、５～７、又は５～６つのヌクレオチドからなる。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列及びモジュレーターステム配列はそれぞれ、４、５、６、７、８、９、又は１０個のヌクレオチドからなる。各配列中のヌクレオチドの組成物が、二重鎖の安定性に影響を与え、Ｃ－Ｇ塩基対が、Ａ－Ｕ塩基対より高い安定性を与えることが理解される。特定の実施形態において、塩基対の２０％～８０％、２０％～７０％、２０％～６０％、２０％～５０％、２０％～４０％、２０％～３０％、３０％～８０％、３０％～７０％、３０％～６０％、３０％～５０％、３０％～４０％、４０％～８０％、４０％～７０％、４０％～６０％、４０％～５０％、５０％～８０％、５０％～７０％、５０％～６０％、６０％～８０％、６０％～７０％、又は７０％～８０％が、Ｃ－Ｇ塩基対である。

【０２２０】

特定の実施形態において、ターゲッターステム配列及びモジュレーターステム配列はそれぞれ、５つのヌクレオチドからなる。したがって、ターゲッターステム配列及びモジュレーターステム配列は、５塩基対の二重鎖を形成する。特定の実施形態において、５塩基対のうちの０～４、０～３、０～２、０～１、１～５、１～４、１～３、１～２、２～５、２～４、２～３、３～５、３～４、又は４～５つが、Ｃ－Ｇ塩基対である。特定の実施形態において、５塩基対のうちの０、１、２、３、４、又は５つが、Ｃ－Ｇ塩基対である。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列は、５’－ＧＵＡＧＡ－３’からなり、モジュレーターステム配列は、５’－ＵＣＵＡＣ－３’からなる。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列は、５’－ＧＵＧＧＧ－３’からなり、モジュレーターステム配列は、５’－ＣＣＣＡＣ－３’からなる。

【０２２１】

特定の実施形態において、Ｖ－Ａ型システムにおいて、ターゲッターステム配列の３’末端が、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０個以下のヌクレオチドによって、スペーサー配列の５’末端に連結される。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列及びスペーサー配列は、互いに隣接しており、ポリヌクレオチド間結合によって直接連結される。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列及びスペーサー配列は、１つのヌクレオチド、例えば、ウリジンによって連結される。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列及びスペーサー配列は、２つ以上のヌクレオチドによって連結される。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列及びスペーサー配列は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０個のヌクレオチドによって連結される。

【０２２２】

特定の実施形態において、ターゲッター核酸は、ターゲッターステム配列に対して５’側にさらなるヌクレオチド配列をさらに含む。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、少なくとも１つ（例えば、少なくとも２、少なくとも３、少なくとも４、

少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１５、少なくとも２０、少なくとも２５、少なくとも３０、少なくとも３５、少なくとも４０、少なくとも４５、又は少なくとも５０個）のヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、又は５０個のヌクレオチドからなる。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、２つのヌクレオチドからなる。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、対応するシングルガイドＣＲＩＳＰＲ－ＣａｓシステムのｃｒＲＮＡにおいて、ループ又はその断片（例えば、ループの３’末端における１、２、３、又は４つのヌクレオチド）に類似している。ターゲッターステム配列に対して５’側のさらなるヌクレオチド配列が必須でないことがあることが理解され得る。したがって、特定の実施形態において、ターゲッター核酸は、ターゲッターステム配列に対して５’側にいずれのさらなるヌクレオチドも含まない。

【０２２３】

特定の実施形態において、ターゲッター核酸又はシングルガイド核酸は、標的ヌクレオチド配列とハイブリダイズしない３’末端における１つ以上のヌクレオチドを含有するさらなるヌクレオチド配列をさらに含む。さらなるヌクレオチド配列は、３’－５’エキソヌクレアーゼによる分解からターゲッター核酸を保護し得る。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、１００ヌクレオチド長以下である。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、９０、８０、７０、６０、５０、４０、３０、２０、又は１０ヌクレオチド長以下である。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、又は５０ヌクレオチド長である。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、５～１００、５～５０、５～４０、５～３０、５～２５、５～２０、５～１５、５～１０、１０～１００、１０～５０、１０～４０、１０～３０、１０～２５、１０～２０、１０～１５、１５～１００、１５～５０、１５～４０、１５～３０、１５～２５、１５～２０、２０～１００、２０～５０、２０～４０、２０～３０、２０～２５、２５～１００、２５～５０、２５～４０、２５～３０、３０～１００、３０～５０、３０～４０、４０～１００、４０～５０、又は５０～１００ヌクレオチド長である。

【０２２４】

特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、スペーサー配列とともにヘアピンを形成する。このような二次構造は、ガイド核酸又は操作された非天然システムの特異性を増加し得る（Ｋｏｃａｋ　ｅｔ　ａｌ．（２０１９）Ｎａｔ．　Ｂｉｏｔｅｃｈ．３７：６５７－６６を参照）。特定の実施形態において、ヘアピン形成中の自由エネルギー変化は、－２０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１５ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１４ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１３ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１２ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１１ｋｃａｌ／ｍｏｌ、又は－１０ｋｃａｌ／ｍｏｌ以上である。特定の実施形態において、ヘアピン形成中の自由エネルギー変化は、－５ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－６ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－７ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－８ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－９ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１１ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１２ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１３ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１４ｋｃａｌ／ｍｏｌ、又は－１５ｋｃａｌ／ｍｏｌ以上である。特定の実施形態において、ヘアピン形成中の自由エネルギー変化は、－２０～－１０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－２０～－１１ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－２０～－１２ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－２０～－１３ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－２０～－１４ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－２０～－１５ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１５～－１０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１５～－１１ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１５～－１２ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１５～－１３ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１５～－１４ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１４～－１０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１４～－１１ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１４～－１２ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１４～－１３ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１３～－１０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１３～－１１ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１３～－１２ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１２～－１０ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－１２～－１１ｋｃａｌ／ｍｏｌ、又は－１１～－１０ｋｃａｌ／ｍｏｌの範囲である。他の実施形態において、ターゲッター核酸又はシングルガイド核酸は、スペーサー配列に対して３

’側にいずれのヌクレオチドも含まない。
【０２２５】
特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、モジュレーターステム配列に対して３’側にさらなるヌクレオチド配列をさらに含む。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、少なくとも１つ（例えば、少なくとも２、少なくとも３、少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１５、少なくとも２０、少なくとも２５、少なくとも３０、少なくとも３５、少なくとも４０、少なくとも４５、又は少なくとも５０個）のヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、又は５０個のヌクレオチドからなる。さらなるヌクレオチド配列は、１つのヌクレオチド（例えば、ウリジン）からなる。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、２つのヌクレオチドからなる。特定の実施形態において、さらなるヌクレオチド配列は、対応するシングルガイドＣＲＩＳＰＲ－ＣａｓシステムのｃｒＲＮＡにおいて、ループ又はその断片（例えば、ループの５’末端における１、２、３、又は４つのヌクレオチド）に類似している。モジュレーターステム配列に対して３’側のさらなるヌクレオチド配列が必須でないことがあることが理解される。したがって、特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、モジュレーターステム配列に対して３’側にいずれのさらなるヌクレオチドも含まない。
【０２２６】
ターゲッターステム配列に対して５’側のさらなるヌクレオチド配列及びモジュレーターステム配列に対して３’側のさらなるヌクレオチド配列が、存在する場合、互いに相互作用し得ることが理解される。例えば、ターゲッターステム配列に対してすぐ５’側のヌクレオチド及びモジュレーターステム配列に対してすぐ３’側のヌクレオチドが、ワトソン・クリック型塩基対を形成しない（本来は、それらがそれぞれ、ターゲッターステム配列の一部及びモジュレーターステム配列の一部を構成し得る）が、ターゲッターステム配列に対して５’側のさらなるヌクレオチド配列及びモジュレーターステム配列に対して３’側のさらなるヌクレオチド配列中の他のヌクレオチドが、１、２、３つ、又はそれ以上の塩基対（例えば、ワトソン・クリック型塩基対）を形成し得る。このような相互作用は、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸を含む複合体の安定性に影響を与え得る。
【０２２７】
ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸を含む複合体の安定性は、計算されるか又は実際に測定されるかのいずれかで、複合体の形成中のギブスの自由エネルギー変化（ΔＧ）によって評価され得る。複合体の予測される全ての塩基対合が、ターゲッター核酸中の塩基とモジュレーター核酸中の塩基との間で起こる場合、すなわち、鎖内二次構造が存在しない場合、複合体の形成中のΔＧは、一般に、対応するシングルガイド核酸内の二次構造の形成中のΔＧと相関する。ΔＧを計算又は測定する方法が、当該技術分野において公知である。例示的な方法は、Ｇｒｕｂｅｒ ｅｔ ａｌ．（２００８）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，３６（Ｗｅｂ Ｓｅｒｖｅｒ ｉｓｓｕｅ）：Ｗ７０－Ｗ７４に開示されるようなＲＮＡｆｏｌｄ（ｒｎａ．ｔｂｉ．ｕｎｉｖｉｅ．ａｃ．ａｔ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ＲＮＡＷｅｂＳｕｉｔｅ／ＲＮＡｆｏｌｄ．ｃｇｉ）である。特に示されない限り、本開示におけるΔＧ値は、対応するシングルガイド核酸内の二次構造の形成についてＲＮＡｆｏｌｄによって計算される。特定の実施形態において、ΔＧは、－１ｋｃａｌ／ｍｏｌ以下、例えば、－２ｋｃａｌ／ｍｏｌ以下、－３ｋｃａｌ／ｍｏｌ以下、－４ｋｃａｌ／ｍｏｌ以下、－５ｋｃａｌ／ｍｏｌ以下、－６ｋｃａｌ／ｍｏｌ以下、－７ｋｃａｌ／ｍｏｌ以下、－７．５ｋｃａｌ／ｍｏｌ以下、又は－８ｋｃａｌ／ｍｏｌ以下である。特定の実施形態において、ΔＧは、－１０ｋｃａｌ／ｍｏｌ以上、例えば、－９ｋｃａｌ／ｍｏｌ以上、－８．５ｋｃａｌ／ｍｏｌ以上、又は－８ｋｃａｌ／ｍｏｌ以上である。特定の実施形態において、ΔＧは、－１０～－４ｋｃａｌ／ｍｏｌの範囲である。特定の実施形態において、ΔＧは、－８～－４ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－７～－４ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－６～－４ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－５～－４ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－８～－４．５ｋｃ

ａｌ／ｍｏｌ、－７～－４．５ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－６～－４．５ｋｃａｌ／ｍｏｌ、又は－５～－４．５ｋｃａｌ／ｍｏｌの範囲である。特定の実施形態において、ΔＧは、約－８ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－７ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－６ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－５ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－４．９ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－４．８ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－４．７ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－４．６ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－４．５ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－４．４ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－４．３ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－４．２ｋｃａｌ／ｍｏｌ、－４．１ｋｃａｌ／ｍｏｌ、又は－４ｋｃａｌ／ｍｏｌである。

【０２２８】

ΔＧが、ターゲッターステム配列内でないターゲッター核酸中の配列、及び／又はモジュレーターステム配列内でないモジュレーター核酸中の配列によって影響され得ることが理解される。例えば、ターゲッターステム配列に対して５’側のさらなる配列と、モジュレーターステム配列に対して３’側のさらなる配列との間の１つ以上の塩基対（例えば、ワトソン・クリック型塩基対）が、ΔＧを低下させ得、すなわち、核酸複合体を安定化し得る。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列に対してすぐ５’側のヌクレオチドは、ウラシルを含むか、又はウリジンであり、モジュレーターステム配列に対してすぐ３’側のヌクレオチドは、ウラシルを含むか、又はウリジンであり、それによって、非従来型Ｕ－Ｕ塩基対を形成する。

【０２２９】

特定の実施形態において、モジュレーター核酸又はシングルガイド核酸は、モジュレーターステム配列に対して５’側に位置する本明細書において「５’テール」と呼ばれるヌクレオチド配列を含む。天然Ｖ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムにおいて、５’テールは、ｃｒＲＮＡのステム－ループ構造に対して５’側に位置するヌクレオチド配列である。操作されたＶ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムにおける５’テールは、シングルガイドであるか又はデュアルガイドであるかにかかわらず、対応する天然Ｖ－Ａ型ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムにおける５’テールに類似し得る。

【０２３０】

理論によって制約されるものではないが、５’テールが、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ複合体の形成に関与し得ると考えられる。例えば、特定の実施形態において、５’テールは、モジュレーターステム配列とともにシュードノット構造を形成し、これは、Ｃａｓタンパク質によって認識される（Ｙａｍａｎｏ　ｅｔ　ａｌ．（２０１６）Ｃｅｌｌ，１６５：９４９を参照）。特定の実施形態において、５’テールは、少なくとも３（例えば、少なくとも４又は少なくとも５）ヌクレオチド長である。特定の実施形態において、５’テールは、３、４、又は５ヌクレオチド長である。特定の実施形態において、５’テールの３’末端におけるヌクレオチドは、ウラシルを含むか、又はウリジンである。特定の実施形態において、５’テールにおける、３’末端から数えて２番目の位置のヌクレオチドは、ウラシルを含むか、又はウリジンである。特定の実施形態において、５’テールにおける、３’末端から数えて３番目の位置のヌクレオチドは、アデニンを含むか、又はアデノシンである。この３番目のヌクレオチドは、モジュレーターステム配列に対して５’側のヌクレオチドとともに塩基対（例えば、ワトソン・クリック型塩基対）を形成し得る。したがって、特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、モジュレーターステム配列に対して５’側にウリジン又はウラシル含有ヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、５’テールは、５’－ＡＵＵ－３’のヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、５’テールは、５’－ＡＡＵＵ－３’のヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、５’テールは、５’－ＵＡＡＵＵ－３’のヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、５’テールは、モジュレーターステム配列に対してすぐ５’側に位置する。

【０２３１】

特定の実施形態において、シングルガイド核酸、ターゲッター核酸、及び／又はモジュレーター核酸は、ターゲッターステム配列とモジュレーターステム配列との間のハイブリダイゼーション以外の二次構造の程度を低下させるように設計される。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列及びモジュレーターステム配列以外のシングルガイド核

酸のヌクレオチドの約７５％、５０％、４０％、３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、５％、１％以下、又はそれ未満が、最適にフォールディングされる場合、自己相補的塩基対合に関与する。特定の実施形態において、ターゲッター核酸及び／又はモジュレーター核酸のヌクレオチドの約７５％、５０％、４０％、３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、５％、１％以下、又はそれ未満が、最適にフォールディングされる場合、自己相補的塩基対合に関与する。最適なフォールディングは、任意の好適なポリヌクレオチドフォールディングアルゴリズムによって決定され得る。一部のプログラムは、最小のギブスの自由エネルギーの計算に基づいている。このようなアルゴリズムの一例は、Ｚｕｋｅｒ ａｎｄ Ｓｔｉｅｇｌｅｒ（Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．９（１９８１），１３３－１４８）に記載されるようなｍＦｏｌｄである。フォールディングアルゴリズムの別の例は、ウィーン大学の理論化学学会（Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｆｏｒ Ｔｈｅｏｒｅｔｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｔ ｔｈｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｖｉｅｎｎａ）によって開発され、セントロイド構造予測アルゴリズムを使用するオンラインウェブサーバーＲＮＡｆｏｌｄである（例えば、Ａ．Ｒ．Ｇｒｕｂｅｒ ｅｔ ａｌ．，２００８，Ｃｅｌｌ １０６（１）：２３－２４；及びＰＡ Ｃａｒｒ ａｎｄ ＧＭ Ｃｈｕｒｃｈ，２００９，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２７（１２）：１１５１－６２を参照）。

【０２３２】

ターゲッター核酸は、特定の標的ヌクレオチド配列に指向され、ドナーテンプレートは、標的ヌクレオチド配列又はその近傍の配列を修飾するように設計され得る。したがって、シングルガイド核酸、ターゲッター核酸、又はモジュレーター核酸とドナーテンプレートとの結合が、編集効率を高め、オフターゲット作用を低減し得ることが理解される。したがって、特定の実施形態において、シングルガイド核酸又はモジュレーター核酸は、ドナーテンプレートとハイブリダイズすることが可能なドナーテンプレートリクルート配列をさらに含む（図２Ｂを参照）。ドナーテンプレートは、以下のセクションＩＩの「ドナーテンプレート」サブセクションに記載されている。ドナーテンプレート及びドナーテンプレートリクルート配列は、それらが配列相補性を有するように設計され得る。特定の実施形態において、ドナーテンプレートリクルート配列は、ドナーテンプレートの少なくとも一部に少なくとも９０％（例えば、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、又は少なくとも９９％）相補的である。特定の実施形態において、ドナーテンプレートリクルート配列は、ドナーテンプレートの少なくとも一部に１００％相補的である。特定の実施形態において、ドナーテンプレートが、修復されるべき配列に相同でない操作された配列を含む場合、ドナーテンプレートリクルート配列は、ドナーテンプレート中の操作された配列とハイブリダイズすることが可能である。特定の実施形態において、ドナーテンプレートリクルート配列は、少なくとも２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、又は１００ヌクレオチド長である。特定の実施形態において、ドナーテンプレートリクルート配列は、シングルガイド核酸の５’末端において若しくはその近くに又はモジュレーター核酸の５’末端において若しくはその近くに位置する。特定の実施形態において、ドナーテンプレートリクルート配列は、シングルガイド核酸又はモジュレーター核酸の、存在する場合、５’テールに、又はモジュレーターステム配列に、ポリヌクレオチド間結合又はヌクレオチドリンカーを介して連結される。

【０２３３】

特定の実施形態において、シングルガイド核酸又はモジュレーター核酸は、編集エンハンサー配列をさらに含み、これが、遺伝子編集及び／又は相同組換え修復（ＨＤＲ）の効率を高める（図２Ｃを参照）。例示的な編集エンハンサー配列は、Ｐａｒｋ ｅｔ ａｌ．（２０１８）Ｎａｔ．Ｃｏｍｍｕｎ．９：３３１３に記載されている。特定の実施形態において、編集エンハンサー配列は、存在する場合５’テールに対して５’側に、又はシングルガイド核酸又はモジュレーターステム配列に対して５’側に位置する。特定の実施形

態において、編集エンハンサー配列は、１～５０、４～５０、９～５０、１５～５０、２５～５０、１～２５、４～２５、９～２５、１５～２５、１～１５、４～１５、９～１５、１～９、４～９、又は１～４ヌクレオチド長である。特定の実施形態において、編集エンハンサー配列は、約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、又は５５ヌクレオチド長である。編集エンハンサー配列は、標的ヌクレオチド配列又は操作された非天然システムが接触し得る任意の他の配列、例えば、操作された非天然システムが送達される細胞のゲノム配列との相同性を最小限にするように設計される。特定の実施形態において、編集エンハンサーはヘアピン構造の存在を最小限にするように設計される。編集エンハンサーは、本明細書に開示される化学修飾の１つ以上を含み得る。

【０２３４】

シングルガイド核酸、モジュレーター核酸、及び／又はターゲッター核酸は、核酸分解を防止又は低減する保護ヌクレオチド配列をさらに含み得る。特定の実施形態において、保護ヌクレオチド配列は、少なくとも５（例えば、少なくとも１０、少なくとも１５、少なくとも２０、少なくとも２５、少なくとも３０、少なくとも３５、少なくとも４０、少なくとも４５、又は少なくとも５０）ヌクレオチド長である。保護ヌクレオチド配列の長さは、エキソヌクレアーゼが５’テール、モジュレーターステム配列、ターゲッターステム配列、及び／又はスペーサー配列に到達する時間を増加させ、それによって、シングルガイド核酸、モジュレーター核酸、及び／又はターゲッター核酸のこれらの部分を、エキソヌクレアーゼによる分解から保護する。特定の実施形態において、保護ヌクレオチド配列は、二次構造、例えば、ヘアピン又はｔＲＮＡ構造を形成して、エキソヌクレアーゼによる分解の速度を低下させる（例えば、Ｗｕ　ｅｔ　ａｌ．（２０１８）Ｃｅｌｌ．Ｍｏｌ．Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉ．，７５（１９）：３５９３～３６０７を参照）。二次構造は、当該技術分野において公知の方法、例えば、ウィーン大学（Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　ｏｆ　Ｖｉｅｎｎａ）によって開発され、セントロイド構造予測アルゴリズムを使用するオンラインウェブサーバーＲＮＡｆｏｌｄによって予測され得る（Ｇｒｕｂｅｒ　ｅｔ　ａｌ．（２００８）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓａ　Ｒｅｓ．，３６：Ｗ７０を参照）。保護ヌクレオチド配列中に存在し得る特定の化学修飾がまた、以下の「ＲＮＡ修飾」サブセクションに開示されるように、核酸分解を防止又は低減し得る。

【０２３５】

保護ヌクレオチド配列は、典型的に、シングルガイド核酸、モジュレーター核酸、及び／又はターゲッター核酸の５’又は３’末端に位置する。特定の実施形態において、シングルガイド核酸は、保護ヌクレオチド配列を、５’末端、３’末端、又は両端に、任意にヌクレオチドリンカーを介して含む。特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、保護ヌクレオチド配列を、５’末端、３’末端、又は両端に、任意にヌクレオチドリンカーを介して含む。特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、５’末端に保護ヌクレオチド配列を含む（図２Ａを参照）。特定の実施形態において、ターゲッター核酸は、保護ヌクレオチド配列を、５’末端、３’末端、又は両端に、任意にヌクレオチドリンカーを介して含む。

【０２３６】

上述されるように、限定はされないが、ドナーテンプレートリクルート配列、編集エンハンサー配列、保護ヌクレオチド配列、及びこのような配列を、存在する場合５’テールに、又はモジュレーターステム配列に結合するリンカーを含む様々なヌクレオチド配列が、単一の核酸又はモジュレーター核酸の５’部分に存在し得る。ドナーテンプレートリクルート、編集向上、分解に対する保護、及び結合の機能が、互いに排他的でなく、１つのヌクレオチド配列が、このような機能の１つ以上を有し得ることが理解される。例えば、特定の実施形態において、シングルガイド核酸又はモジュレーター核酸は、ドナーテンプレートリクルート配列及び編集エンハンサー配列の両方であるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、シングルガイド核酸又はモジュレーター核酸は、ドナーテンプレートリクルート配列及び保護配列の両方であるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形

態において、シングルガイド核酸又はモジュレーター核酸は、編集エンハンサー配列及び保護配列の両方であるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、シングルガイド核酸又はモジュレーター核酸は、ドナーテンプレートリクルート配列、編集エンハンサー配列、及び保護配列であるヌクレオチド配列を含む。特定の実施形態において、存在する場合５’テールに対して５’側、又はモジュレーターステム配列に対して５’側のヌクレオチド配列が、１～９０、１～８０、１～７０、１～６０、１～５０、１～４０、１～３０、１～２０、１～１０、１０～９０、１０～８０、１０～７０、１０～６０、１０～５０、１０～４０、１０～３０、１０～２０、２０～９０、２０～８０、２０～７０、２０～６０、２０～５０、２０～４０、２０～３０、３０～９０、３０～８０、３０～７０、３０～６０、３０～５０、３０～４０、４０～９０、４０～８０、４０～７０、４０～６０、４０～５０、５０～９０、５０～８０、５０～７０、５０～６０、６０～９０、６０～８０、６０～７０、７０～９０、７０～８０、又は８０～９０ヌクレオチド長である。

【０２３７】

特定の実施形態において、操作された非天然システムは、ＨＤＲを強化し、及び／又はＮＨＥＪを阻害する１つ以上の化合物（例えば、小分子化合物）をさらに含む。このような機能を有する例示的な化合物は、Ｍａｒｕｙａｍａ ｅｔ ａｌ．（２０１５）Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．３３（５）：５３８－４２；Ｃｈｕ ｅｔ ａｌ．（２０１５）Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．３３（５）：５４３－４８；Ｙｕ ｅｔ ａｌ．（２０１５）Ｃｅｌｌ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ １６（２）：１４２－４７；Ｐｉｎｄｅｒ ｅｔ ａｌ．（２０１５）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．４３（１９）：９３７９－９２；及びＹａｇｉｚ ｅｔ ａｌ．（２０１９）Ｃｏｍｍｕｎ．Ｂｉｏｌ．２：１９８に記載されている。特定の実施形態において、操作された非天然システムは、ＤＮＡリガーゼＩＶアンタゴニスト（例えば、ＳＣＲ７化合物、Ａｄ４ Ｅ１Ｂ５５Ｋタンパク質、及びＡｄ４ Ｅ４ｏｒｆ６タンパク質）、ＲＡＤ５１アゴニスト（例えば、ＲＳ－１）、ＤＮＡ依存性プロテインキナーゼ（ＤＮＡ－ＰＫ）アンタゴニスト（例えば、ＮＵ７４４１及びＫＵ００６０６４８）、β３アドレナリン受容体アゴニスト（例えば、Ｌ７５５５０７）、ＥＲからゴルジ体への細胞内タンパク質輸送の阻害剤（例えば、ブレフェルジンＡ）、並びにそれらの任意の組合せからなる群から選択される１つ以上の化合物をさらに含む。

【０２３８】

特定の実施形態において、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸を含む操作された非天然システムは、調整性又は誘導性である。例えば、特定の実施形態において、ターゲッター核酸、モジュレーター核酸、及び／又はＣａｓタンパク質は、異なる時点で標的ヌクレオチド配列に導入され得、システムは、全ての構成要素が存在する場合にのみ活性になる。特定の実施形態において、ターゲッター核酸、モジュレーター核酸、及び／又はＣａｓタンパク質の量は、所望の効率及び特異性を達成するように調整され得る。特定の実施形態において、ターゲッターステム配列又はモジュレーターステム配列を含む過剰量の核酸が、システムに加えられ得、それによって、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸の複合体を解離させ、システムをオフにする。

【０２３９】

Ｃ．ｇＮＡ修飾

シングルガイド核酸、ターゲッター核酸、及び／又はモジュレーター核酸を含むガイド核酸は、ＤＮＡ（例えば、修飾ＤＮＡ）、ＲＮＡ（例えば、修飾ＲＮＡ）、又はそれらの組合せを含み得る。特定の実施形態において、シングルガイド核酸は、ＤＮＡ（例えば、修飾ＤＮＡ）、ＲＮＡ（例えば、修飾ＲＮＡ）、又はそれらの組合せを含む。特定の実施形態において、ターゲッター核酸は、ＤＮＡ（例えば、修飾ＤＮＡ）、ＲＮＡ（例えば、修飾ＲＮＡ）、又はそれらの組合せを含む。特定の実施形態において、モジュレーター核酸は、ＤＮＡ（例えば、修飾ＤＮＡ）、ＲＮＡ（例えば、修飾ＲＮＡ）、又はそれらの組合せを含む。スペーサー配列は、ウリジン（Ｕ）ではなくチミジン（Ｔ）を含むことによって、ＤＮＡ配列として示され得る。対応するＲＮＡ配列及びＤＮＡ／ＲＮＡキメラ配列

も考えられることが理解される。例えば、スペーサー配列がＲＮＡである場合、その配列は、各ＴをＵで置き換えることによって、本明細書に開示されるＤＮＡ配列から誘導され得る。結果として、ヌクレオチド配列を説明するために、Ｔ及びＵは、本明細書において同義的に使用される。

【０２４０】

特定の実施形態において、以下を含むターゲッター核酸を含む操作された非天然システム：標的ヌクレオチド配列及びターゲッターステム配列とハイブリダイズするように設計されるスペーサー配列；及びターゲッターステム配列に相補的なモジュレーターステム配列を含むモジュレーター核酸、及び、任意に、５’配列、例えば、テール配列、ここで、シングルガイド核酸において、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、単一のポリヌクレオチドの一部であり、デュアルガイド核酸において、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、別個の核酸であり；修飾は、ターゲッター核酸（デュアル及びシングルｇＮＡ）の３’末端において若しくはその近くに、ターゲッター核酸（デュアルｇＮＡ）の５’末端において若しくはその近くに、モジュレーター核酸（デュアルｇＮＡ）の３’末端において若しくはその近くに、モジュレーター核酸（シングル及びデュアルｇＮＡ）の５’末端において若しくはその近くに、又は必要に応じてシングル又はデュアルｇＮＡについてのそれらの組合せで、１つ以上のヌクレオチド又はヌクレオチド間結合に対する１つ以上の化学修飾を含み得る。特定の実施形態において、Ｃａｓヌクレアーゼは、Ｖ－Ａ型Ｃａｓヌクレアーゼである。モジュレーター及び／又はターゲッター核酸配列は、ガイド核酸セクションに詳述されるように、さらなる配列を含むことができ、修飾が、必要に応じて及び当業者に明らかであるように、これらのさらなる配列中にあり得る。以下のこのセクションに記載される実施形態において、特定の実施形態において、ガイド核酸は、モジュレーター核酸における５’側からモジュレーターステム配列における３’側へ、及びターゲッターステム配列における５’側からターゲッター配列における３’側へと配向され（例えば、図１Ａ及び１Ｂを参照）；特定の実施形態において、必要に応じて、ガイド核酸は、モジュレーター核酸における３’側からモジュレーターステム配列における５’側へ、及びターゲッターステム配列における３’側からターゲッター配列における５’側へと配向される。

【０２４１】

ターゲッター核酸は、ＤＮＡ（例えば、修飾ＤＮＡ）、ＲＮＡ（例えば、修飾ＲＮＡ）、又はそれらの組合せを含み得る。モジュレーター核酸は、ＤＮＡ（例えば、修飾ＤＮＡ）、ＲＮＡ（例えば、修飾ＲＮＡ）、又はそれらの組合せを含み得る。特定の実施形態において、ターゲッター核酸は、ＲＮＡであり、モジュレーター核酸は、ＲＮＡである。ＲＮＡの形態のターゲッター核酸は、ターゲッターＲＮＡとも呼ばれ、ＲＮＡの形態のモジュレーター核酸は、モジュレーターＲＮＡとも呼ばれる。本明細書に開示されるヌクレオチド配列は、チミジン（Ｔ）及び／又はウリジン（Ｕ）を含むＲＮＡ配列を含むことによってＤＮＡ配列として示される。対応するＤＮＡ配列、ＲＮＡ配列、及びＤＮＡ／ＲＮＡキメラ配列も考えられることが理解される。例えば、スペーサー配列が、ＤＮＡ配列として示される場合、ＲＮＡとしてこのスペーサー配列を含む核酸が、各ＴをＵで置き換えることによって、本明細書に開示されるＤＮＡ配列から誘導され得る。結果として、ヌクレオチド配列を説明するため、Ｔ及びＵは、本明細書において同義的に使用される。

【０２４２】

特定の実施形態において、ｇＮＡのいくつか又は全てが、ＲＮＡ、例えば、ｇＲＮＡである。特定の実施形態において、ｇＮＡの５～１００％、１０～１００％、２０～１００％、３０～１００％、４０～１００％、５０～１００％、６０～１００％、７０～１００％、８０～１００％、９０～１００％、９５～１００％、９９～１００％、９９．５～１００％が、ｇＲＮＡである。特定の実施形態において、ｇＮＡの２０％～８０％、２０％～７０％、２０％～６０％、２０％～５０％、２０％～４０％、２０％～３０％、３０％～８０％、３０％～７０％、３０％～６０％、３０％～５０％、３０％～４０％、４０％～８０％、４０％～７０％、４０％～６０％、４０％～５０％、５０％～８０％、５０％

～７０％、５０％～６０％、６０％～８０％、６０％～７０％、又は７０％～８０％が、ＲＮＡである。特定の実施形態において、ｇＮＡの５０％がＲＮＡである。特定の実施形態において、ｇＮＡの７０％がＲＮＡである。特定の実施形態において、ｇＮＡの９０％がＲＮＡである。特定の実施形態において、ｇＮＡの１００％が、ＲＮＡ、例えば、ｇＲＮＡである。さらなる実施形態において、ＲＮＡでないｇＮＡの残りの部分は、修飾リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、修飾デオキシリボヌクレオチド、又は合成、例えば、非天然ヌクレオチド、例えば、限定であることは意図されないが、特に、トレオース核酸、ロックド核酸、ペプチド核酸、アラビノ核酸、ヘキソース核酸を含む。

【０２４３】

特定の実施形態において、ターゲッター核酸及び／又はモジュレーター核酸は、リボース基中の１つ以上の修飾、リン酸基中の１つ以上の修飾、核酸塩基中の１つ以上の修飾、１つ以上の末端修飾、又はそれらの組合せを有するＲＮＡである。例示的な修飾が、米国特許第１０，９００，０３４号明細書及び同第１０，７６７，１７５号明細書、米国特許出願公開第２０１８／０１１９１４０号明細書、Ｗａｔｔｓ ｅｔ ａｌ．（２００８）Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ．Ｔｏｄａｙ １３：８４２－５５、及びＨｅｎｄｅｌ ｅｔ ａｌ．（２０１５）ＮＡＴ．ＢＩＯＴＥＣＨＮＯＬ．３３：９８５に開示されている。

【０２４４】

特定の実施形態において、ターゲッター核酸、例えば、ＲＮＡは、リボース、リン酸基、核酸塩基に対する修飾、又は末端修飾を含む３’末端において又はその近くに少なくとも１つのヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、ターゲッター核酸の３’末端は、スペーサー配列を含む。特定の実施形態において、ターゲッター核酸の３’末端は、ターゲッターステム配列を含む。例示的な修飾が、Ｄａｎｇ ｅｔ ａｌ．（２０１５）Ｇｅｎｏｍｅ Ｂｉｏｌ．１６：２８０，Ｋｏｃａｚ ｅｔ ａｌ．（２０１９）Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ．３７：６５７－６６、Ｌｉｕ ｅｔ ａｌ．（２０１９）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．４７（８）：４１６９－４１８０、Ｓｃｈｕｂｅｒｔ ｅｔ ａｌ．（２０１８）Ｊ．Ｃｙｔｏｋｉｎｅ Ｂｉｏｌ．３（１）：１２１、Ｔｅｎｇ ｅｔ ａｌ．（２０１９）Ｇｅｎｏｍｅ Ｂｉｏｌ．２０（１）：１５、Ｗａｔｔｓ ｅｔ ａｌ．（２００８）Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ．Ｔｏｄａｙ １３（１９－２０）：８４２－５５、及びＷｕ ｅｔ ａｌ．（２０１８）Ｃｅｌｌ Ｍｏｌ．Ｌｉｆｅ．Ｓｃｉ．７５（１９）：３５９３－６０７に開示されている。

【０２４５】

リボース基中の修飾としては、限定はされないが、２’位における修飾又は４’位における修飾が挙げられる。例えば、特定の実施形態において、リボースは、２’－Ｏ－Ｃ１～４アルキル、例えば、２’－Ｏ－メチル（２’－ＯＭｅ、又はＭ）を含む。特定の実施形態において、リボースは、２’－Ｏ－Ｃ１～３アルキル－Ｏ－Ｃ１～３アルキル、例えば、２’－Ｏ－（２－メトキシエチル）又は２’－ＭＯＥとしても知られている２’－メトキシエトキシ（２’－Ｏ－$CH_2CH_2OCH_3$）を含む。特定の実施形態において、リボースは、２’－Ｏ－アリルを含む。特定の実施形態において、リボースは、２’－Ｏ－２，４－ジニトロフェノール（ＤＮＰ）を含む。特定の実施形態において、リボースは、２’－ハロ、例えば、２’－Ｆ、２’－Ｂｒ、２’－Ｃｌ、又は２’－Ｉを含む。特定の実施形態において、リボースは、２’－NH_2を含む。特定の実施形態において、リボースは、２’－Ｈ（例えば、デオキシヌクレオチド）を含む。特定の実施形態において、リボースは、２’－アラビノ又は２’－Ｆ－アラビノを含む。特定の実施形態において、リボースは、２’－ＬＮＡ又は２’－ＵＬＮＡを含む。特定の実施形態において、リボースは、４’－チオリボシルを含む。

【０２４６】

修飾は、デオキシ基、例えば、２’－デオキシ－３’－ホスホノアセテート（ＤＰ）、２’－デオキシ－３’－チオホスホノアセテート（ＤＳＰ）も含み得る。

【０２４７】

リン酸基におけるヌクレオチド間結合修飾としては、限定はされないが、ホスホロチオ

エート（Ｓ）、キラルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ボラノホスホネート、Ｃ$_{1}$～$_{4}$アルキルホスホネート、例えば、メチルホスホネート、ボラノホスホネート、ホスホノカルボキシレート、例えば、ホスホノアセテート（Ｐ）、ホスホノカルボン酸エステル、例えば、ホスホノアセテートエステル、アミド、チオホスホノカルボキシレート、例えば、チオホスホノアセテート（ＳＰ）、チオホスホノカルボン酸エステル、例えば、チオホスホノアセテートエステル、及びホスホジエステル又は上記の修飾ホスフェートのいずれかを有する２’，５’－結合が挙げられる。様々な塩、混合塩及び遊離酸形態も含まれる。

【０２４８】

核酸塩基における修飾としては、限定はされないが、２－チオウラシル、２－チオシトシン、４－チオウラシル、６－チオグアニン、２－アミノアデニン、２－アミノプリン、プソイドウラシル、ヒポキサンチン、７－デアザグアニン、７－デアザ－８－アザグアニン、７－デアザアデニン、７－デアザ－８－アザアデニン、５－メチルシトシン、５－メチルウラシル、５－ヒドロキシメチルシトシン、５－ヒドロキシメチルウラシル、５，６－デヒドロウラシル、５－プロピニルシトシン、５－プロピニルウラシル、５－エチニルシトシン、５－エチニルウラシル、５－アリルウラシル、５－アリルシトシン、５－アミノアリルウラシル、５－アミノアリル－シトシン、５－ブロモウラシル、５－ヨードウラシル、ジアミノプリン、ジフルオロトルエン、ジヒドロウラシル、脱塩基ヌクレオチド、Ｚ塩基、Ｐ塩基、非構造化（Ｕｎｓｔｒｕｃｔｕｒｅｄ）核酸、イソグアニン、イソシトシン（Ｐｉｃｃｉｒｉｌｌｉ　ｅｔ　ａｌ．（１９９０）ＮＡＴＵＲＥ，３４３：３３を参照）、５－メチル－２－ピリミジン（Ｒａｐｐａｐｏｒｔ（１９９３）ＢＩＯＣＨＥＭＩＳＴＲＹ，３２：３０４７を参照）、ｘ（Ａ、Ｇ、Ｃ、Ｔ）、及びｙ（Ａ、Ｇ、Ｃ、Ｔ）が挙げられる。

【０２４９】

末端修飾としては、限定はされないが、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、炭化水素リンカー（ヘテロ原子（Ｏ，Ｓ，Ｎ）置換炭化水素スペーサー；ハロ置換炭化水素スペーサー；ケト－、カルボキシル－、アミド－、チオニル－、カルバモイル－、チオノカルバモイル含有炭化水素スペーサー、プロパンジオール）、スペルミンリンカー、色素、例えば、蛍光色素（例えば、フルオレセイン、ローダミン、シアニン）、クエンチャー（例えば、ダブシル、ＢＨＱ）、並びに他の標識（例えば、ビオチン、ジゴキシゲニン、アクリジン、ストレプトアビジン、アビジン、ペプチド及び／又はタンパク質など）が挙げられる。特定の実施形態において、末端修飾は、ＲＮＡと、オリゴヌクレオチド（デオキシリボヌクレオチド及び／又はリボヌクレオチドなど）、ペプチド、タンパク質、糖、オリゴ糖、ステロイド、脂質、葉酸、ビタミン及び／又は他の分子を含む別の分子とのコンジュゲーション（又はライゲーション）を含む。特定の実施形態において、ＲＮＡに組み込まれる末端修飾が、ＲＮＡ配列の内部に、ホスホジエステル結合として組み込まれ、ＲＮＡ中の２つのヌクレオチド間のどこかに組み込まれ得る、２－（４－ブチルアミドフルオレセイン）プロパン－１，３－ジオールビス（ホスホジエステル）リンカーなどのリンカーを介して位置する。

【０２５０】

上記に開示される修飾は、ＲＮＡの形態のターゲッター核酸及び／又はモジュレーター核酸において組み合わされ得る。特定の実施形態において、ＲＮＡにおける修飾は、２’－Ｏ－メチル－３’ホスホロチオエート（ＭＳ）、２’－Ｏ－メチル－３’－ホスホノアセテート（ＭＰ）、２’－Ｏ－メチル－３’－チオホスホノアセテート（ＭＳＰ）、２’－ハロ－３’－ホスホロチオエート（例えば、２’－フルオロ－３’－ホスホロチオエート）、２’－ハロ－３’－ホスホノアセテート（例えば、２’－フルオロ－３’－ホスホノアセテート）、及び２’－ハロ－３’－チオホスホノアセテート（例えば、２’－フルオロ－３’－チオホスホノアセテート）の組み込みからなる群から選択される。

【０２５１】

特定の実施形態において、修飾は、シングル又はデュアルｇＮＡについて適切な際、タ

ーゲッター又はモジュレーター核酸のいずれかの３’若しくは５’末端において又はその近くに、２’－Ｏ－メチル（Ｍ）、ホスホロチオエート（Ｓ）、ホスホノアセテート（Ｐ）、チオホスホノアセテート（ＳＰ）、２’－Ｏ－メチル－３’－ホスホロチオエート（ＭＳ）、２’－Ｏ－メチル－３’－ホスホノアセテート（ＭＰ）、２’－Ｏ－メチル－３’－チオホスホノアセテート（ＭＳＰ）、２’－デオキシ－３’－ホスホノアセテート（ＤＰ）、２’－デオキシ－３’－チオホスホノアセテート（ＤＳＰ）、又はそれらの組合せを含み得る。特定の実施形態において、修飾は、５’若しくは３’プロパンジオール又はＣ３リンカー修飾のいずれかを含み得る。

【０２５２】

特定の実施形態において、修飾は、ＲＮＡの安定性を改変する。特定の実施形態において、修飾は、例えば、修飾なしの対応するＲＮＡと比べてＲＮＡのヌクレアーゼ抵抗性を高めることによって、ＲＮＡの安定性を向上させる。安定性向上修飾としては、限定はされないが、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－$C_{1\sim4}$アルキル、２’－ハロ（例えば、２’－Ｆ、２’－Ｂｒ、２’－Ｃｌ、又は２’－Ｉ）、２’ＭＯＥ、２’－$O_{1\sim3}C$アルキル－Ｏ－Ｃ１～３アルキル、２’－ＮＨ２、２’－Ｈ（又は２’－デオキシ）、２’－アラビノ、２’－Ｆ－アラビノ、４’－チオリボシル糖部分、３’－ホスホロチオエート、３’－ホスホノアセテート、３’－チオホスホノアセテート、３’－メチルホスホネート、３’－ボラノホスフェート、３’－ホスホロジチオエート、リボース環の２’及び４’炭素間にメチレン架橋を含むロックド核酸（「ＬＮＡ」）ヌクレオチド、及びアンロックド核酸（「ＵＬＮＡ」）ヌクレオチドの組み込みが挙げられる。このような修飾は、５’配列、例えば、テール配列、モジュレーターステム配列（デュアルガイド核酸）、ターゲッターステム配列（デュアルガイド核酸）、及び／又はスペーサー配列の分解を防止又は低減するための保護基として使用するのに好適である（「ターゲッター及びモジュレーター核酸」サブセクションを参照）。

【０２５３】

特定の実施形態において、修飾は、操作された非天然システムの特異性を改変する。特定の実施形態において、修飾は、例えば、オフターゲット結合及び／若しくは切断を向上させるか、又はオフターゲット結合及び／若しくは切断を低減するか、又はそれらの組合せによって、操作された非天然システムの特異性を向上させる。特異性向上修飾としては、限定はされないが、２－チオウラシル、２－チオシトシン、４－チオウラシル、６－チオグアニン、２－アミノアデニン、及びプソイドウラシルが挙げられる。３’末端の１０、５、４、３、２、又は１ヌクレオチド以内、例えば、３’末端ヌクレオチドが修飾される。

【０２５４】

特定の実施形態において、修飾は、修飾なしの対応するＲＮＡと比べて、ＲＮＡの免疫賦活作用を改変する。例えば、特定の実施形態において、修飾は、ＴＬＲ７、ＴＬＲ８、ＴＬＲ９、ＴＬＲ３、ＲＩＧ－Ｉ、及び／又はＭＤＡ５を活性化するＲＮＡの能力を低減する。

【０２５５】

特定の実施形態において、ターゲッター核酸及び／又はモジュレーター核酸は、少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、又は４０個の修飾ヌクレオチド又はヌクレオチド間結合を含む。修飾は、これらの核酸が機能性を保持するように、ターゲッター核酸及び／又はモジュレーター核酸中の１つ以上の位置において行われ得る。例えば、修飾核酸は依然として、Ｃａｓタンパク質を標的ヌクレオチド配列に指向し、Ｃａｓタンパク質がそのエフェクター機能を発揮するのを可能にし得る。ある位置における特定の修飾が、その位置におけるヌクレオチド又はヌクレオチド間結合の機能性に基づいて選択され得ることが理解される。例えば、特異性向上修飾は、スペーサー配列、ターゲッターステム配列、又はモジュレーターステム配列中のヌクレオチド又はヌクレオ

チド間結合に好適であり得る。安定性向上修飾は、ターゲッター核酸及び／又はモジュレーター核酸中の１つ以上の末端ヌクレオチド又はヌクレオチド間結合に好適であり得る。特定の実施形態において、５’末端における若しくはその近くの少なくとも１つ（例えば、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、若しくは少なくとも５つ）の末端ヌクレオチド又はヌクレオチド間結合及び／又はターゲッター核酸の３’末端における若しくはその近くの少なくとも１つ（例えば、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、若しくは少なくとも５つ）末端ヌクレオチド又はヌクレオチド間結合が、修飾される。特定の実施形態において、５’末端における若しくはその近くの５つ以下（例えば、１つ以下、２つ以下、３つ以下、若しくは４つ以下）の末端ヌクレオチド又はヌクレオチド間結合及び／又はターゲッター核酸の３’末端における若しくはその近くの５つ以下（例えば、１つ以下、２つ以下、３つ以下、若しくは４つ以下）の末端ヌクレオチド又はヌクレオチド間結合が、修飾される。特定の実施形態において、５’末端における若しくはその近くの少なくとも１つ（例えば、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、若しくは少なくとも５つ）末端ヌクレオチド又はヌクレオチド間結合及び／又はモジュレーター核酸の３’末端における若しくはその近くの少なくとも１つ（例えば、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、若しくは少なくとも５つ）末端ヌクレオチド又はヌクレオチド間結合が、修飾される。特定の実施形態において、５’末端における若しくはその近くの５つ以下（例えば、１つ以下、２つ以下、３つ以下、若しくは４つ以下）末端ヌクレオチド又はヌクレオチド間結合及び／又はモジュレーター核酸の３’末端における若しくはその近くの５つ以下（例えば、１つ以下、２つ以下、３つ以下、若しくは４つ以下）の末端ヌクレオチド又はヌクレオチド間結合が、修飾される。修飾のための位置の選択は、米国特許第１０，９００，０３４号明細書及び同第１０，７６７，１７５号明細書に記載されている。この段落において使用される際、ターゲッター又はモジュレーター核酸が、ＤＮＡ及びＲＮＡの組合せである場合、全体として核酸は、ＲＮＡであると見なされ、ＤＮＡヌクレオチドは、リボースの２’－Ｈ修飾及び任意に核酸塩基の修飾を含む、ＲＮＡの修飾であると見なされる。

【０２５６】

デュアルガイド核酸システムにおいて、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸が、同じ核酸中にない、すなわち、従来のポリヌクレオチド間結合を介して末端間連結されていない一方、これらの核酸中に導入される１つ以上の化学修飾を介して互いに共有結合によりコンジュゲートされ得、それによって、二本鎖複合体の安定性を高め、及び／又はシステムの他の特徴を改善することが理解される。

【０２５７】

ＩＩＩ．ゲノムＤＮＡを標的化、編集、及び／又は修飾するための組成物及び方法

本明細書に開示されるものなどの操作された非天然システムは、細胞又は生物内の標的核酸、例えば、ＤＮＡ（例えば、ゲノムＤＮＡ）を標的化、編集、及び／又は修飾するのに有用であり得る。

【０２５８】

本発明は、予め選択された標的配列又はその部分の配列を含む標的核酸（例えば、ＤＮＡ）を切断する方法であって、標的ＤＮＡを、本明細書に開示される操作された非天然システムと接触させ、それによって、標的ＤＮＡの切断をもたらす、方法を提供する。

【０２５９】

さらに、本発明は、予め選択された標的配列又はその部分の配列を含む標的核酸（例えば、ＤＮＡ）を結合する方法であって、標的ＤＮＡを、本明細書に開示される操作された非天然システムと接触させ、それによって、標的ＤＮＡへのシステムの結合をもたらすことを含む方法を提供する。この方法は、例えば、システムの構成要素（例えば、Ｃａｓタンパク質）が、検出可能なマーカーを含む場合、例えば、予め選択された標的遺伝子の存在及び／又は位置を検出するのに有用である。

【０２６０】

さらに、予め選択された標的配列若しくはその部分の配列、又は標的ＤＮＡ（例えば、

染色体中のヒストンタンパク質）に関連する構造（例えば、タンパク質）を含む標的核酸（例えば、ＤＮＡ）を修飾する方法であって、標的ＤＮＡを、本明細書に開示される操作された非天然システムと接触させ、それによって、標的ＤＮＡ又は標的ＤＮＡに関連する構造の修飾をもたらすことを含み、ここで、Ｃａｓタンパク質が、エフェクタードメインを含むか又はエフェクタータンパク質に関連する、方法が提供される。修飾は、エフェクタードメイン又はエフェクタータンパク質の機能に対応する。上記のセクションＩ中の「Ｃａｓタンパク質」サブセクションに記載される例示的な機能が、これに適用可能である。

【０２６１】

操作された非天然システムは、複合体として標的核酸と接触され得る。したがって、特定の実施形態において、方法は、標的核酸を、ターゲッター核酸、モジュレーター核酸、及び本明細書に開示されるＣａｓタンパク質を含むＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ複合体と接触させることを含む。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、Ｖ－Ａ型、Ｖ－Ｃ型、又はＶ－Ｄ型Ｃａｓタンパク質（例えば、ＣａｓヌクレアーゼＣａｓヌクレアーゼ）である。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質（例えば、ＣａｓヌクレアーゼＣａｓヌクレアーゼ）である。

【０２６２】

特定の実施形態において、予め選択された標的遺伝子座の群の１つにおいてヒトゲノム配列を編集する方法であって、本明細書に開示される操作された非天然システムをヒト細胞内に送達し、それによって、ヒト細胞内の標的遺伝子座におけるゲノム配列の編集をもたらすことを含む方法が提供される。特定の実施形態において、予め選択された標的遺伝子座の群の１つにおいてヒトゲノム配列を検出する方法であって、本明細書に開示される操作された非天然システムをト細胞内に送達し、それによって、ヒト細胞内の標的遺伝子座を検出することを含み、ここで、システムの構成要素（例えば、Ｃａｓタンパク質）が、検出可能なマーカーを含む、方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、予め選択された標的遺伝子座の群の１つにおいてヒト染色体を修飾する方法であって、本明細書に開示される操作された非天然システムをヒト細胞内に送達し、それによって、ヒト細胞内の標的遺伝子座における染色体の修飾をもたらすことを含み、ここで、Ｃａｓタンパク質が、エフェクタードメインを含むか又はエフェクタータンパク質に関連する、方法が、本明細書において提供される。

【０２６３】

ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ複合体は、予め形成されたリボヌクレオタンパク質（ＲＮＰ）複合体を細胞内に導入することによって細胞に送達され得る。或いは、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ複合体の１つ以上の構成要素は、細胞内で発現され得る。送達の例示的な方法は、当該技術分野において公知であり、例えば、米国特許第８，６９７，３５９号明細書、同第１０，１１３，１６７号明細書、同第１０，５７０，４１８号明細書、同第１０，８２９，７８７号明細書、同第１１，１１８，１９４号明細書、及び同第１１，１２５，７３９号明細書並びに米国特許出願公開第２０１５／０３４４９１２号明細書、同第２０１８／０１１９１４０号明細書、及び同第２０１８／０２８２７６３号明細書に記載されている。

【０２６４】

細胞内のＤＮＡ（例えば、ゲノムＤＮＡ）をＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ複合体と接触させることは、細胞内への複合体の全ての構成要素の送達を必要としないことが理解される。例えば、構成要素の１つ以上が、細胞内に既に存在していてもよい。特定の実施形態において、細胞（又はその親細胞／祖先細胞）が、Ｃａｓタンパク質を発現するように操作されており、シングルガイド核酸（又はシングルガイド核酸をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される調節要素を含む核酸）、ターゲッター核酸（又はターゲッター核酸をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される調節要素を含む核酸）、及び／又はモジュレーター核酸（又はモジュレーター核酸をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される調節要素を含む核酸）が、細胞内に送達される。特定の実施形態において、細胞（又はその親細胞／祖先細胞）が、モジュレーター核酸を発現するように操作され

ており、Ｃａｓタンパク質（又はＣａｓタンパク質をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される調節要素を含む核酸）及びターゲッター核酸（又はターゲッター核酸をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される調節要素を含む核酸）が、細胞内に送達される。特定の実施形態において、細胞（又はその親細胞／祖先細胞）及びモジュレーター核酸が、Ｃａｓタンパク質を発現するように操作されており、ターゲッター核酸（又はターゲッター核酸をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される調節要素を含む核酸）が、細胞内に送達される。

【０２６５】

特定の実施形態において、標的ＤＮＡは、標的細胞のゲノム内にある。したがって、本発明はまた、非天然システム又は本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ発現システムを含む細胞を提供する。さらに、本発明は、ゲノムが、本明細書に開示されるＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステム又は複合体によって修飾されている細胞を提供する。

【０２６６】

標的細胞は、任意の生物由来の有糸分裂細胞又は有糸分裂後細胞、例えば、細菌細胞（例えば、大腸菌（Ｅ　ｃｏｌｉ））、古細菌細胞、単細胞真核生物の細胞、植物細胞、藻細胞、例えば、ボツリオコッカス・ブラウニー（Ｂｏｔｒｙｏｃｏｃｃｕｓ　ｂｒａｕｎｉｉ）、コナミドリムシ（Ｃｈｌａｍｙｄｏｍｏｎａｓ　ｒｅｉｎｈａｒｄｔｉｉ）、ナンノクロロプシス・ガディタナ（Ｎａｎｎｏｃｈｌｏｒｏｐｓｉｓ　ｇａｄｉｔａｎａ）、クロレラ・ピレノイドサ（Ｃｈｌｏｒｅｌｌａ　ｐｙｒｅｎｏｉｄｏｓａ）、ヤツマタモク（Ｓａｒｇａｓｓｕｍ　ｐａｔｅｎｓ　Ｃ．Ａｇａｒｄｈ）など、真菌細胞（例えば、酵母細胞、例えば、Ｓ．セレビシエ（Ｓ．ｃｅｒｖｉｓｉａｅ））、動物細胞、無脊椎動物（例えば、ミバエ、刺胞動物（ｅｎｉｄａｒｉａｎ）、棘皮動物、線虫など）由来の細胞、脊椎動物（例えば、魚類、両生類、爬虫類、鳥類、哺乳動物）由来の細胞、哺乳動物由来の細胞、げっ歯類由来の細胞、又はヒト由来の細胞であり得る。標的細胞の型としては、限定はされないが、幹細胞（例えば、胚性幹（ＥＳ）細胞、人工多能性幹（ｉＰＳ）細胞、胚細胞）、体細胞（例えば、線維芽細胞、造血細胞、Ｔリンパ球（例えば、ＣＤ８＋Ｔリンパ球）、ＮＫ細胞、ニューロン、筋細胞、骨細胞、肝細胞、膵細胞）、任意の段階の胚のインビトロ又はインビボ胚細胞（例えば、１細胞期、２細胞期、４細胞期、８細胞期のゼブラフィッシュ胚）が挙げられる。細胞は、樹立細胞株由来であってもよく、又は初代細胞（すなわち、対象に由来しており、インビトロで限られた回数の継代培養で増殖されている細胞及び細胞培養物）であってもよい。例えば、初代培養物は、０回、１回、２回、４回、５回、１０回、又は１５回以内であるが、転化期になるほど十分でない回数継代されたものであり得る培養物である。典型的に、初代細胞株は、インビトロで１０回未満の継代にわたって維持される。細胞が初代細胞である場合、それらは、任意の好適な方法によって個体から採取され得る。例えば、白血球は、アフェレーシス、白血球アフェレーシス、又は密度勾配分離によって採取され得るが、皮膚、筋肉、骨髄、脾臓、肝臓、膵臓、肺、腸、又は胃などの組織由来の細胞は、生検によって採取され得る。採取された細胞は、すぐに使用されてもよく、又は凍結条件下で凍結保護剤とともに貯蔵され、当該技術分野において一般的に知られている方法で、後の時点で解凍されてもよい。

【０２６７】

Ａ．リボヌクレオタンパク質（ＲＮＰ）送達及び「ｃａｓＲＮＡ」送達

本明細書に開示される操作された非天然システムは、限定はされないが、後述されるリボヌクレオタンパク質（ＲＮＰ）送達及び「ＣａｓＲＮＡ」送達を含む、当該技術分野において公知の好適な方法によって、細胞内に送達され得る。

【０２６８】

特定の実施形態において、シングルガイド核酸及びＣａｓタンパク質を含むＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステム、又はターゲッター核酸、モジュレーター核酸、及びＣａｓタンパク質を含むＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムが、ＲＮＰ複合体へと組み合わされ、次に、予め形成された複合体として細胞内に送達され得る。この方法は、限られた期間中の細胞の遺伝情報又はエピジェネティック情報の能動的修飾に好適である。例えば、Ｃａｓタンパク

質が、細胞のゲノムＤＮＡを修飾するためのヌクレアーゼ活性を有する場合、ヌクレアーゼ活性は、ＤＮＡ切断を可能にするための期間にわたって保持される必要があるだけであり、長期のヌクレアーゼ活性は、オフターゲット作用を増加させ得る。同様に、一部の特定のエピジェネティック修飾は、確立されたら細胞内に維持され得、娘細胞に継承され得る。

【０２６９】

「リボヌクレオタンパク質」又は「ＲＮＰ」は、本明細書で使用される場合、核タンパク質及びリボ核酸を含む複合体を指し得る。本明細書において提供される「核タンパク質」は、核酸（例えば、ＲＮＡ、ＤＮＡ）に結合することが可能なタンパク質を指し得る。核タンパク質がリボ核酸に結合する場合、それは、「リボヌクレオタンパク質」と呼ばれ得る。リボヌクレオタンパク質とリボ核酸との間の相互作用は、例えば、共有結合によって直接的であってもよく、又は間接的、例えば、非共有結合（例えば、静電相互作用（例えば、イオン結合、水素結合、ハロゲン結合）、ファン・デル・ワールス相互作用（例えば、双極子－双極子、双極子誘起双極子、ロンドン分散力）、環スタッキング（π効果）、疎水性相互作用など）によって間接的であってもよい。特定の実施形態において、リボヌクレオタンパク質は、リボ核酸に非共有結合により結合されたＲＮＡ結合モチーフを含む。例えば、ＲＮＡ結合モチーフにおける正に荷電した芳香族アミノ酸残基（例えば、リジン残基）は、ＲＮＡの負の核酸リン酸骨格とともに静電相互作用を形成し得る。

【０２７０】

Ｃａｓタンパク質の効率的な充填を確実にするために、シングルガイド核酸、又はターゲッター核酸及びモジュレーター核酸の組合せが、Ｃａｓタンパク質と比べて過剰なモル量（例えば、少なくとも２倍、少なくとも３倍、少なくとも４倍、又は少なくとも５倍）で提供され得る。特定の実施形態において、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、Ｃａｓタンパク質と複合体を形成する前に好適な条件下でアニーリングされる。他の実施形態において、ターゲッター核酸、モジュレーター核酸、及びＣａｓタンパク質は、一緒に直接混合されて、ＲＮＰを形成する。

【０２７１】

様々な送達方法を用いて、本明細書に開示されるＲＮＰを細胞内に導入することができる。例示的な送達方法又はビヒクルとしては、限定はされないが、マイクロインジェクション、リポソーム（例えば、米国特許第１０８２９，７８７号明細書を参照）、例えば、血液脳関門を越えて分子を送達する分子トロイの木馬（ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｔｒｏｊａｎ　ｈｏｒｓｅ）リポソーム（Ｐａｒｄｒｉｄｇｅ　ｅｔ　ａｌ．（２０１０）Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂ．Ｐｒｏｔｏｃ．，ｄｏｉ：１０．１１０１／ｐｄｂ．ｐｒｏｔ５４０７を参照）、免疫リポソーム、ビロソーム、マイクロベシクル（例えば、エキソソーム及びＡＲＭＭ）、ポリカチオン、脂質：核酸コンジュゲート、エレクトロポレーション、細胞透過性ペプチド（米国特許第１１，１１８，１９４号明細書を参照）、ナノ粒子、ナノワイヤ（Ｓｈａｌｅｋ　ｅｔ　ａｌ．（２０１２）Ｎａｎｏ　Ｌｅｔｔｅｒｓ，１２：６４９８を参照）、エキソソーム、及び細胞膜の摂動（例えば、マイクロ流体システム中の狭窄部に細胞を通過させることによる、米国特許第１１，１２５，７３９号明細書を参照）が挙げられる。標的細胞が増殖性細胞である場合、ＲＮＰ送達の効率は、細胞周期の同期化によって向上され得る（米国特許第１０，５７０，４１８号明細書を参照）。特定の実施形態において、ＲＮＰが、エレクトロポレーションによって細胞内に送達される。

【０２７２】

特定の実施形態において、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、「手法で、すなわち、（ａ）シングルガイド核酸、又はターゲッター核酸及びモジュレーター核酸の組合せ、及び（ｂ）Ｃａｓタンパク質をコードするＲＮＡ（例えば、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ））を送達することで細胞内に送達される。Ｃａｓタンパク質をコードするＲＮＡは、細胞内で翻訳され、シングルガイド核酸又はターゲッター核酸及びモジュレーター核酸の組合せとともに細胞内で複合体を形成し得る。ＲＮＰ手法と同様に、ＲＮＡは、安定性向上

修飾がＲＮＡの１つ以上において行われたとしても、細胞内で限られた半減期を有する。したがって、「Ｃａｓ　ＲＮＡ」手法は、限られた期間中の細胞の遺伝情報又はエピジェネティック情報の能動的修飾、例えば、ＤＮＡ切断に好適であり、オフターゲット作用を低減するという利点を有する。

【０２７３】

ｍＲＮＡは、Ｃａｓコード配列に動作可能に連結される調節要素を含むＤＮＡの転写によって産生され得る。Ｃａｓタンパク質の複数コピーが、１つのｍＲＮＡから生成され得ることを考慮すると、シングルガイド核酸、又はターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、一般に、ｍＲＮＡと比べて過剰なモル量（例えば、少なくとも５倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも３０倍、少なくとも５０倍、又は少なくとも１００倍）で提供される。特定の実施形態において、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、細胞内への送達前に好適な条件下でアニーリングされる。他の実施形態において、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、インビトロでのアニーリングなしで細胞内に送達される。

【０２７４】

様々な送達システムを用いて、「Ｃａｓ　ＲＮＡ」システムを細胞内に導入することができる。送達方法又はビヒクルの非限定的な例としては、マイクロインジェクション、パーティクルガン（ｂｉｏｌｉｓｔｉｃ　ｐａｒｔｉｃｌｅ）、リポソーム（例えば、米国特許第１０，８２９，７８７号明細書を参照）、例えば、血液脳関門を越えて分子を送達する分子トロイの木馬リポソーム（Ｐａｒｄｒｉｄｇｅ　ｅｔ　ａｌ．（２０１０）Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂ．Ｐｒｏｔｏｃ．，ｄｏｉ：１０．１１０１／ｐｄｂ．ｐｒｏｔ５４０７号明細書）、免疫リポソーム、ビロソーム、ポリカチオン、脂質：核酸コンジュゲート、エレクトロポレーション、ナノ粒子、ナノワイヤ（Ｓｈａｌｅｋ　ｅｔ　ａｌ．（２０１２）Ｎａｎｏ　Ｌｅｔｔｅｒｓ，１２：６４９８を参照）、エキソソーム、及び細胞膜の摂動（例えば、マイクロ流体システム中の狭窄部に細胞を通過させることによる、米国特許第１１，１２５，７３９号明細書を参照）が挙げられる。エレクトロポレーションによる「核酸のみ」の手法の具体例は、国際（ＰＣＴ）公報番号国際公開第２０１６／１６４３５６号パンフレットに記載されている。

【０２７５】

特定の実施形態において、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、（ａ）シングルガイド核酸又はターゲッター核酸及びモジュレーター核酸の組合せ、及び（ｂ）Ｃａｓコード配列に動作可能に連結される調節要素を含むＤＮＡの形態で細胞内に送達される。ＤＮＡは、プラスミド、ウイルスベクター、又は「ＣＲＩＳＰＲ発現システム」サブセクションに記載される任意の他の形態において提供され得る。このような送達方法は、標的細胞内でＣａｓタンパク質の構成的発現をもたらし得（例えば、ＤＮＡが、エピソームベクターで細胞内に維持されるか、又はゲノム内に組み込まれる場合）、Ｃａｓタンパク質がヌクレアーゼ活性を有する場合、望ましくないオフターゲット作用のリスクを増加させ得る。それにもかかわらず、この手法は、Ｃａｓタンパク質が、非ヌクレアーゼエフェクター（例えば、転写活性化因子又は抑制因子）を含む場合、有用である。それはまた、研究目的及び植物のゲノム編集にも有用である。

【０２７６】

Ｂ．ＣＲＩＳＰＲ発現システム

本明細書に開示されるガイド核酸をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される調節要素を含む核酸も、本明細書において提供される。特定の実施形態において、核酸は、シングルガイド核酸をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される調節要素を含み；この核酸は、単独で、ＣＲＩＳＰＲ発現システムを構成し得る。特定の実施形態において、核酸は、ターゲッター核酸をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される調節要素を含む。特定の実施形態において、核酸は、モジュレーター核酸をコードするヌクレオチド配列をさらに含み、ここで、モジュレーター核酸をコードするヌクレオチド配列は、ターゲッター核酸をコードするヌクレオチド配列と同じ調節要素又は異なる調

節要素に動作可能に連結され；この核酸は、単独で、ＣＲＩＳＰＲ発現システムを構成し得る。

【０２７７】

さらに、本発明は、（ａ）ターゲッター核酸をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される第１の調節要素を含む核酸及び（ｂ）モジュレーター核酸をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される第２の調節要素を含む核酸を含むＣＲＩＳＰＲ発現システムを提供する。

【０２７８】

特定の実施形態において、ＣＲＩＳＰＲ発現システムは、Ｃａｓタンパク質、例えば、本明細書に開示されるＣａｓタンパク質をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される第３の調節要素を含む核酸をさらに含む。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、Ｖ－Ａ型、Ｖ－Ｃ型、又はＶ－Ｄ型Ｃａｓタンパク質（例えば、Ｃａｓヌクレアーゼ）である。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質は、Ｖ－Ａ型Ｃａｓタンパク質（例えば、Ｃａｓヌクレアーゼ）である。

【０２７９】

この文脈において使用される場合、「動作可能に連結される」という用語は、目的のヌクレオチド配列が、ヌクレオチド配列の発現（例えば、ベクターが宿主細胞内に導入されるとき、インビトロ転写／翻訳システム内又は宿主細胞内で）を可能にする方法で調節要素に連結されることを意味する。

【０２８０】

上記のＣＲＩＳＰＲ発現システムの核酸は、独立して、様々な核酸、例えば、ＤＮＡ（例えば、修飾ＤＮＡ）及びＲＮＡ（例えば、修飾ＲＮＡ）から選択され得る。特定の実施形態において、ガイド核酸をコードする１つ以上のヌクレオチド配列に動作可能に連結される調節要素を含む核酸は、ＤＮＡの形態である。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される第３の調節要素を含む核酸は、ＤＮＡの形態である。第３の調節要素は、Ｃａｓタンパク質の発現を促す構成的又は誘導性プロモーターであり得る。他の実施形態において、Ｃａｓタンパク質をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結される第３の調節要素を含む核酸は、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）の形態である。

【０２８１】

ＣＲＩＳＰＲ発現システムの核酸は、１つ以上のベクターにおいて提供され得る。「ベクター」という用語は、本明細書で使用される場合、連結されている別の核酸を輸送することが可能な核酸分子を指し得る。従来のウイルスベース及び非ウイルスベースの遺伝子導入法を用いて、核酸を、細胞、例えば、原核細胞、真核細胞、哺乳動物細胞、又は標的組織内に導入することができる。非ウイルスベクター送達システムとしては、ＤＮＡプラスミド、ＲＮＡ（例えば、本明細書に記載されるベクターの転写産物）、ネイキッド核酸、及び送達ビヒクルと複合体形成される核酸、例えば、リポソームが挙げられる。ウイルスベクター送達システムとしては、細胞への送達後にエピソーム性又は組み込まれたゲノムのいずれかを有する、ＤＮＡ及びＲＮＡウイルスが挙げられる。遺伝子治療の手順は、当該技術分野において公知であり、Ｖａｎ Ｂｒｕｎｔ（１９８８）ＢＩＯＴＥＣＨＮＯＬＯＧＹ，６：１１４９；Ａｎｄｅｒｓｏｎ（１９９２）ＳＣＩＥＮＣＥ，２５６：８０８；Ｎａｂｅｌ ＆ Ｆｅｉｇｎｅｒ（１９９３）ＴＩＢＴＥＣＨ，１１：２１１；Ｍｉｔａｎｉ ＆ Ｃａｓｋｅｙ（１９９３）ＴＩＢＴＥＣＨ，１１：１６２；Ｄｉｌｌｏｎ（１９９３）ＴＩＢＴＥＣＨ，１１：１６７；Ｍｉｌｌｅｒ（１９９２）ＮＡＴＵＲＥ，３５７：４５５；Ｖｉｇｎｅ，（１９９５）ＲＥＳＴＯＲＡＴＩＶＥ ＮＥＵＲＯＬＯＧＹ ＡＮＤ ＮＥＵＲＯＳＣＩＥＮＣＥ，８：３５；Ｋｒｅｍｅｒ ＆ Ｐｅｒｒｉｃａｕｄｅｔ（１９９５）ＢＲＩＴＩＳＨ ＭＥＤＩＣＡＬ ＢＵＬＬＥＴＩＮ，５１：３１；Ｈａｄｄａｄａ ｅｔ ａｌ．（１９９５）ＣＵＲＲＥＮＴ ＴＯＰＩＣＳ ＩＮ ＭＩＣＲＯＢＩＯＬＯＧＹ ＡＮＤ ＩＭＭＵＮＯＬＯＧＹ、１９９：２９７；Ｙｕ ｅｔ ａｌ．（１９９４）ＧＥＮＥ ＴＨＥＲＡＰＹ，１：１３；及びＤｏｅｒｆｌｅｒ ａｎ

ｄ Ｂｏｈｍ（Ｅｄｓ．）（２０１２）Ｔｈｅ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｒｅｐｅｒｔｏｉｒｅ ｏｆ Ａｄｅｎｏｖｉｒｕｓｅｓ ＩＩ：Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｖｉｒｕｓ－Ｃｅｌｌ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓに開示されている。特定の実施形態において、ベクターの少なくとも１つが、ＤＮＡプラスミドである。特定の実施形態において、ベクターの少なくとも１つが、ウイルスベクター（例えば、レトロウイルス、アデノウイルス、又はアデノ随伴ウイルス）である。

【０２８２】

特定のベクターは、それらが導入される宿主細胞内で自己複製することが可能である（例えば、細菌複製起点を有する細菌ベクター及びエピソーム性哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム性哺乳動物ベクター及び複製欠損性ウイルスベクター）は、宿主細胞内で自己複製しない。しかしながら、特定のベクターは、宿主細胞のゲノムに組み込まれることがあり、それによって、宿主ゲノムとともに複製される。当業者は、様々なベクターが、様々な送達方法に好適であり得、様々な宿主トロピズムを有し、使用に好適な１つ以上のベクターを選択することができることを理解するであろう。

【０２８３】

「調節要素」という用語は、本明細書で使用される場合、非コード配列（例えば、ターゲッター核酸又はモジュレーター核酸）若しくはコード配列（例えば、Ｃａｓタンパク質）の転写をもたらす、及び／又は調節する、並びに／或いはコードされたポリペプチドの翻訳を調節する、転写制御配列及び／又は翻訳制御配列、例えば、プロモーター、エンハンサー、転写終結シグナル（例えば、ポリアデニル化シグナル）、内部リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）、タンパク質分解シグナルなどを指し得る。このような調節要素は、例えば、Ｇｏｅｄｄｅｌ，ＧＥＮＥ ＥＸＰＲＥＳＳＩＯＮ ＴＥＣＨＮＯＬＯＧＹ：ＭＥＴＨＯＤＳ ＩＮ ＥＮＺＹＭＯＬＯＧＹ，１８５，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．（１９９０）に記載されている。調節要素としては、多くの型の宿主細胞におけるヌクレオチド配列の構成的発現を指令するもの及び特定の宿主細胞内のみにおけるヌクレオチド配列の発現を指令するもの（例えば、組織特異的調節配列）が挙げられる。組織特異的プロモーターは、主に、目的の所望の組織、例えば、筋肉、ニューロン、骨、皮膚、血液、特定の器官（例えば、肝臓、膵臓）、又は特定の細胞型（例えば、リンパ球）における発現を指令し得る。調節要素はまた、組織又は細胞型特異的であっても又はそうでなくでもよい、時間依存的方法、例えば、細胞周期依存的又は発生段階依存的方法で発現を指令するものであり得る。特定の実施形態において、ベクターは、１つ以上のｐｏｌ ＩＩＩプロモーター（例えば、１、２、３、４、５、又はそれ以上のｐｏｌ ＩＩＩプロモーター）、１つ以上のｐｏｌ ＩＩプロモーター（例えば、１、２、３、４、５、又はそれ以上のｐｏｌ ＩＩプロモーター）、１つ以上のｐｏｌ Ｉプロモーター（例えば、１、２、３、４、５、又はそれ以上のｐｏｌ Ｉプロモーター）、或いはそれらの組合せを含む。ｐｏｌ ＩＩＩプロモーターの例としては、限定はされないが、Ｕ６及びＨ１プロモーターが挙げられる。ｐｏｌ ＩＩプロモーターの例としては、限定はされないが、レトロウイルスのラウス肉腫ウイルス（ＲＳＶ）ＬＴＲプロモーター（任意に、ＲＳＶエンハンサーを伴う）、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモーター（任意に、ＣＭＶエンハンサーを伴う）、ＳＶ４０プロモーター、ジヒドロ葉酸レダクターゼプロモーター、β－アクチンプロモーター、ホスホグリセロールキナーゼ（ＰＧＫ）プロモーター、及びＥＦ１αプロモーターが挙げられる。「調節要素」という用語には、エンハンサー要素、例えば、ＷＰＲＥ；ＣＭＶエンハンサー；ＨＴＬＶ－ＩのＬＴＲ中のＲ－Ｕ５’セグメント（Ｔａｋｅｂｅ ｅｔ ａｌ．（１９８８）ＭＯＬ．ＣＥＬＬ．ＢＩＯＬ．，８：４６６を参照）；ＳＶ４０エンハンサー；及びウサギβ－グロビンのエキソン２及び３の間のイントロン配列（Ｏ’Ｈａｒｅ ｅｔ ａｌ．（１９８１）ＰＲＯＣ．ＮＡＴＬ．ＡＣＡＤ．ＳＣＩ．ＵＳＡ．，７８：１５２７を参照）も包含される。発現ベクターの設計が、形質転換される宿主細胞の選択、所望される発現レベルなどの要因に依存し得ることが、当業者によって理解されるであろう。ベクターは、宿主細胞内に導入されて、本明細書に記載される核酸によってコードされる、転写産物、タンパク質、又

はペプチド（融合タンパク質又はペプチドを含む）、（例えば、ＣＲＩＳＰＲ転写産物、タンパク質、酵素、その突然変異形態、又はその融合タンパク質）を産生し得る。

【０２８４】

特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質をコードするヌクレオチド配列は、原核細胞、例えば、大腸菌（Ｅ　ｃｏｌｉ）、真核生物宿主細胞、例えば、酵母細胞（例えば、Ｓ．セレビシエ（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ））、哺乳動物細胞（例えば、マウス細胞、ラット細胞、若しくはヒト細胞）、又は植物細胞内における発現のためにコドン最適化される。様々な種が、特定のアミノ酸のいくつかのコドンに対して特定のバイアスを示す。コドンバイアス（生物間でのコドン使用頻度の差）が、多くの場合、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）の翻訳効率に相関し、これは、ひいては、特に、翻訳されるコドンの特性及び特定のトランスファーＲＮＡ（ｔＲＮＡ）分子の利用能に依存すると考えられる。細胞内における選択されるｔＲＮＡの優勢さは、一般に、ペプチド合成において最も高頻度で使用されるコドンの反映である。したがって、遺伝子は、コドン最適化に基づいて、所与の生物における最適な遺伝子発現のために調整され得る。コドン使用頻度の表は、例えば、ｋａｚｕｓａ．ｏｒ．ｊｐ／ｃｏｄｏｎ／において入手可能な「Ｃｏｄｏｎ　Ｕｓａｇｅ　Ｄａｔａｂａｓｅ」で容易に入手可能であり、これらの表は、いくつかの方法で適合され得る（Ｎａｋａｍｕｒａ　ｅｔ　ａｌ．（２０００）ＮＵＣＬ．ＡＣＩＤＳ　ＲＥＳ．，２８：２９２を参照）。特定の宿主細胞内における発現のために特定の配列をコドン最適化するためのコンピュータアルゴリズム、例えば、Ｇｅｎｅ　Ｆｏｒｇｅ（Ａｐｔａｇｅｎ；Ｊａｃｏｂｕｓ，Ｐａ．）も利用可能である。特定の実施形態において、コドン最適化は、宿主細胞内におけるＣａｓタンパク質の発現を容易にし、又は改善する。

【０２８５】

Ｃ．ドナーテンプレート

ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステム又は複合体による細胞のゲノムにおける標的ヌクレオチド配列の切断は、ＤＮＡ損傷経路を活性化し得、これにより、切断されたＤＮＡ断片がＮＨＥＪ又はＨＤＲによって再接合され得る。ＨＤＲは、配列情報を修復テンプレートから標的に伝達するための、内因性又は外因性のいずれかの修復テンプレートを必要とする。

【０２８６】

特定の実施形態において、操作された非天然システム又はＣＲＩＳＰＲ発現システムは、ドナーテンプレートをさらに含む。本明細書で使用される場合、「ドナーテンプレート」という用語は、細胞又は生物内への導入時に標的ヌクレオチド配列において又はその近くで修復テンプレートとして働くように設計された核酸を指し得る。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、標的ヌクレオチド配列又はその部分を含むポリヌクレオチドに相補的である。最適にアラインメントされた場合、ドナーテンプレートは、標的ヌクレオチド配列の１つ以上のヌクレオチド（例えば、約１、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０個以上、又は約１、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０個を超えるヌクレオチド）と重複し得る。ドナーテンプレートのヌクレオチド配列は、典型的に、それが置換するゲノム配列と同一でない。そうではなく、ドナーテンプレートは、相同組換え修復を補助するのに十分な相同性が存在する限り、ゲノム配列に対して１つ以上の置換、挿入、欠失、逆位又は再配列を含み得る。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、２つの相同領域（すなわち、相同性アーム）に隣接された非相同配列を含み、それにより、標的ＤＮＡ領域と２つの隣接する配列との間の相同組換え修復が、標的領域における非相同配列の挿入をもたらす。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、２つの相同性アーム間に位置する１０～１００ヌクレオチド、５０～５００ヌクレオチド、１００～１，０００ヌクレオチド、２００～２，０００ヌクレオチド、又は５００～５，０００ヌクレオチド長の非相同配列を含む。

【０２８７】

一般に、ドナーテンプレートの相同領域は、組換えが所望されるゲノム配列との少なくとも５０％の配列同一性を有する。相同性アームは、それらが、細胞内条件下で標的ヌクレオチド配列に隣接するヌクレオチド配列との組換えを行うことが可能であるように設計

又は選択される。特定の実施形態において、非標的鎖のＨＤＲが所望される場合、ドナーテンプレートは、標的ヌクレオチド配列の５’側の配列に相同な第１の相同性アーム及び標的ヌクレオチド配列の３’側の配列に相同な第２の相同性アームを含む。特定の実施形態において、第１の相同性アームは、標的ヌクレオチド配列の５’側の配列と少なくとも５０％（例えば、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、又は１００％）同一である。特定の実施形態において、第２の相同性アームは、標的ヌクレオチド配列の３’側の配列と少なくとも５０％（例えば、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、又は１００％）同一である。特定の実施形態において、ドナーテンプレート配列及び標的ヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが、最適にアラインメントされた場合、ドナーテンプレートの最も近いヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列から約１、５、１０、１５、２０、２５、５０、７５、１００、２００、３００、４００、５００、１０００、２０００、３０００、４０００、又はそれ以上のヌクレオチド以内にある。

【０２８８】

特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、修復される配列に相同でない操作された配列をさらに含む。このような操作された配列は、本明細書に開示されるドナーテンプレートリクルート配列とハイブリダイズすることが可能なバーコード及び／又は配列を有し得る。

【０２８９】

特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、ゲノム配列に対して１つ以上の突然変異をさらに含み、ここで、１つ以上の突然変異は、同じＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムによる、ドナーテンプレートの切断又はドナーテンプレート配列の少なくとも一部が組み込まれた修飾ゲノム配列の切断を低減又は防止する。特定の実施形態において、ドナーテンプレートにおいて、標的ヌクレオチド配列に隣接しており、Ｃａｓヌクレアーゼによって認識されるＰＡＭは、同じＣａｓヌクレアーゼによって認識されない配列に突然変異している。特定の実施形態において、ドナーテンプレートにおいて、標的ヌクレオチド配列（例えば、シード領域）が突然変異している。特定の実施形態において、１つ以上の突然変異が、突然変異部位を含むタンパク質コード配列のリーディングフレームに関してサイレントである。

【０２９０】

ドナーテンプレートは、一本鎖ＤＮＡ、一本鎖ＲＮＡ、二本鎖ＤＮＡ、又は二本鎖ＲＮＡとして細胞に提供され得る。ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステム、例えば、本明細書に開示されるシステムが、標的鎖、非標的鎖、又は両方を切断するヌクレアーゼ活性を有し得ることが理解される。標的鎖のＨＤＲが所望される場合、標的鎖に相補的な核酸配列を有するドナーテンプレートも考えられる。

【０２９１】

ドナーテンプレートは、線状又は環状の形態で細胞内に導入され得る。線状形態で導入される場合、ドナーテンプレートの末端は、当業者に公知の方法によって（例えば、エキソヌクレアーゼ分解から）保護され得る。例えば、１つ以上のジデオキシヌクレオチド残基が、線状分子の３’に付加され、及び／又は自己相補的オリゴヌクレオチドが、一端若しくは両端にライゲートされる（例えば、Ｃｈａｎｇ ｅｔ ａｌ．（１９８７）ＰＲＯＣ．ＮＡＴＬ．ＡＣＡＤ ＳＣＩ ＵＳＡ，８４：４９５９；Ｎｅｈｌｓ ｅｔ ａｌ．（１９９６）ＳＣＩＥＮＣＥ，２７２：８８６を参照；上記に開示されるＲＮＡの安定性及び／又は特異性を増加させるための化学修飾も参照）。分解から外因性ポリヌクレオチドを保護するためのさらなる方法としては、限定はされないが、末端アミノ基の付加並び

に修飾ヌクレオチド間結合、例えば、ホスホロチオネート、ホスホロアミデート、及びＯ－メチルリボース又はデオキシリボース残基などの使用が挙げられる。線状ドナーテンプレートの末端の保護の代わりとして、組換えに影響を及ぼさずに分解され得るさらなる長さの配列が、相同領域の外側に含まれ得る。

【０２９２】

ドナーテンプレートは、本明細書に記載されるベクターの構成要素であり得、別個のベクターに含まれ得、又は別個のポリヌクレオチド、例えば、オリゴヌクレオチド、線状ポリヌクレオチド、又は合成ポリヌクレオチドとして提供され得る。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、ＤＮＡである。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、該当する場合、シングルガイド核酸をコードする配列、ターゲッター核酸をコードする配列、モジュレーター核酸をコードする配列、及び／又はＣａｓタンパク質をコードする配列と同じ核酸中にある。特定の実施形態において、ドナーテンプレートが、別個の核酸で提供される。ドナーテンプレートポリヌクレオチドが、任意の好適な長さ、例えば、約又は少なくとも約５０、７５、１００、１５０、２００、５００、１０００、２０００、３０００、４０００、又はそれ以上のヌクレオチド長のものであり得る。

【０２９３】

ドナーテンプレートは、単離された核酸として細胞内に導入され得る。或いは、ドナーテンプレートは、目的のＤＮＡ領域内への挿入を意図されていないさらなる配列、例えば、複製起点、プロモーター及び抗生物質耐性をコードする遺伝子などを有するベクター（例えば、プラスミド）の一部として細胞内に導入され得る。或いは、ドナーテンプレートは、ウイルス（例えば、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ））によって送達され得る。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、ＡＡＶ、例えば、偽型ＡＡＶとして導入される。ＡＡＶのカプシドタンパク質は、ＡＡＶのトロピズム及び標的細胞型に基づいて、当業者によって選択され得る。例えば、特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、ＡＡＶ８又はＡＡＶ９として肝細胞内に導入される。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、ＡＡＶ６又はＡＡＶＨＳＣとして造血幹細胞、造血前駆細胞、又はＴリンパ球（例えば、ＣＤ８＋Ｔリンパ球）内に導入される（米国特許第９，８９０，３９６号明細書を参照）。カプシドタンパク質（ＶＰ１、ＶＰ２、又はＶＰ３）の配列が、例えば、野生型ＡＡＶカプシド配列と少なくとも５０％（例えば、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、又は少なくとも９９％）の配列同一性を有する野生型ＡＡＶカプシドタンパク質から修飾され得ることが理解される。

【０２９４】

ドナーテンプレートは、様々な送達方法、例えば、本明細書に開示されるウイルス系又は非ウイルス系の方法によって、細胞（例えば、初代細胞）に送達され得る。特定の実施形態において、非ウイルスドナーテンプレートが、標的細胞内にネイキッド核酸として又はリポソーム若しくはポロキサマーとの複合体として導入される。特定の実施形態において、非ウイルスドナーテンプレートは、エレクトロポレーションによって標的細胞内に導入される。他の実施形態において、ウイルスドナーテンプレートが、感染によって標的細胞内に導入される。操作された非天然システムは、ドナーテンプレートの前、後、又は同時に送達され得る（国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０１７／０５３７２９号パンフレットを参照）。当業者は、送達の形態（例えば、ＲＮＡ及びタンパク質成分の転写及び翻訳に必要とされる時間を考慮する）及び細胞内での分子の半減期に基づいて適切なタイミングを選択することができるであろう。特定の実施形態において、Ｃａｓタンパク質を含むＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムが、エレクトロポレーションによって（例えば、ＲＮＰとして）送達される場合、ドナーテンプレート（例えば、ＡＡＶとして）は、操作された非天然システムの導入後４時間以内（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０

、３５、４０、４５、５０、５５、６０、９０、１２０、１５０、１８０、２１０、又は２４０分以内）に細胞内に導入される。

【０２９５】

特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、モジュレーター核酸に共有結合によりコンジュゲートされる。このコンジュゲーションに好適な共有結合は、当該技術分野において公知であり、例えば、米国特許第９，９８２，２７８号明細書及びＳａｖｉｃ ｅｔ ａｌ．（２０１８）ＥＬＩＦＥ ７：ｅ３３７６１に記載されている。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、ポリヌクレオチド間結合を介してモジュレーター核酸（例えば、モジュレーター核酸の５’末端）に共有結合により連結される。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、リンカーを介してモジュレーター核酸（例えば、モジュレーター核酸の５’末端）に共有結合により連結される。

【０２９６】

特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、任意の核酸化学を含み得る。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、ＤＮＡ及び／又はＲＮＡヌクレオチドを含み得る。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、一本鎖ＤＮＡ、線状一本鎖ＲＮＡ、線状二本鎖ＤＮＡ、線状二本鎖ＲＮＡ、環状一本鎖ＤＮＡ、環状一本鎖ＲＮＡ、環状二本鎖ＤＮＡ、又は環状二本鎖ＲＮＡを含み得る。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、ＤＮＡへのＲＮＰの結合を部分的に又は完全になくすための、ＰＡＭ配列における突然変異を含む。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、少なくとも０．０５、０．０１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１、１．２５、１．５、１．７５、２、３、若しくは４、及び／又は０．０１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１、１．２５、１．５、１．７５、２、３、４、若しくは５μｇ μＬ$^{-1}$以下、例えば、０．０１～５μｇ μＬ$^{-1}$の濃度で存在する。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、１つ以上のプロモーターを含む。特定の実施形態において、ドナーテンプレートは、表６の配列番号７８～８５のいずれか１つと少なくとも７０、７５、８０、８５、９０、９５、９９．５、又は１００％同一であるプロモーターを含む。

【０２９７】

【表１０３】

表6: プロモーター配列

名称	配列番号	配列

【０２９８】

【表１０４】

CMV	78	CGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCC GCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACT TTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGT ACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTA AATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACT TGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTG GCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTC TCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGAC TTTCCAAAATGTCGTAACAACTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCG TGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCT
SCP	79	GTACTTATATAAGGGGGTGGGGGCGCGTTCGTCCTCAGTCGCGATCGAACACT CGAGCCGAGCAGACGTGCCTACGGACCG
CMV e-SCP	80	CGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCC GCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACT TTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGT ACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTA AATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACT TGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTACTTATATAAGG GGGTGGGGGCGCGTTCGTCCTCAGTCGCGATCGAACACTCGAGCCGAGCAGAC GTGCCTACGGACCG
CMV max	81	TCAATATTGGCCATTAGCCATATTATTCATTGGTTATATAGCATAAATCAATA TTGGCTATTGGCCATTGCATACGTTGTATCTATATCATAATATGTACATTTAT ATTGGCTCATGTCCAATATGACCGCCATGTTGGCATTGATTATTGACTAGTTA TTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCC GCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCC CGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGAC TTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAG TACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGT AAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTACGGGACTTTCCTAC TTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTT GGCAGTACACCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGT CTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGA CTTTCCAAAATGTCGTAATAACCCCGCCCCGTTGACGCAAATGGGCGGTAGGC GTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGGTCGTTTAGTGAACCGTCAGATC ACTAGTAGCTTTATTGCGGTAGTTTATCACAGTTAAATTGCTAACGCAGTCAG

【０２９９】

【表１０５】

		TGCTCGACTGATCACAGGTAAGTATCAAGGTTACAAGACAGGTTTAAGGAGGC CAATAGAAACTGGGCTTGTCGAGACAGAGAAGATTCTTGCGTTTCTGATAGGC ACCTATTGGTCTTACTGACATCCACTTTGCCTTTCTCTCCACAGGG
JET	82	GAATTCGGGCGGAGTTAGGGCGGAGCCAATCAGCGTGCGCCGTTCCGAAAGTT GCCTTTTATGGCTGGGCGGAGAATGGGCGGTGAACGCCGATGATTATATAAGG ACGCGCCGGGGTGTGGCACAGCTAGTTCCGTCGCAGCCGGGATTTGGGTCGCGG TTCTTGTTTGTGGATCCCTGTGATCGTCACTTGACA
CAG	83	ATCTCGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCC ATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGAC CGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTA ACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAAC TGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTG ACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTA TGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCAT GGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCC CACCCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTTTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGG GCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCG GGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCC GAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGA AGCGCGCGGCGGGCGGGGAGTCGCTGCGACGCTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGC TCCGCCGCCGCCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCC ACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGG TTTAATGACGGCTTGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTGAGGGGCTC CGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGTGCGTGCGTGTGTGT GTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGCTCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCT GCGGGCGCGGCGCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCAGTGTGCGCGAGGGGAGCGCG GCCGGGGGCGGTGCCCCGCGGTGCGGGGGGGGCTGCGAGGGGAACAAAGGCTG CGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGTCGGTCG GGCTGCAACCCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCT TCGGGTGCGGGGCTCCGTACGGGGCGTGGCGCGGGGCTCGCCGTGCCGGGCGG GGGGTGGCGGCAGGTGGGGGTGCCGGGCGGGGCGGGGCCGCCTCGGGCCGGGG AGGGCTCGGGGGAGGGGCGCGGCGGCCCCCGGAGCGCCGGCGGCTGTCGAGGC GCGGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGGGCGCAGGG ACTTCCTTTGTCCCAAATCTGTGCGGAGCCGAAATCTGGGAGGCGCCGCCGCA CCCCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAAATG

【０３００】

【表１０６】

		GGCGGGGAGGGCCTTCGTGCGTCGCCGCGCCGCCGTCCCCTTCTCCCTCTCCA GCCTCGGGGCTGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGG CGGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCAT GTTCATGCCTTCTTCTTTTTCCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTTATTGT GCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATT
PGK	84	GGGGTTGGGGTTGCGCCTTTTCCAAGGCAGCCCTGGGTTTGCGCAGGGACGCG GCTGCTCTGGGCGTGGTTCCGGGAAACGCAGCGGCGCCGACCCTGGGTCTCGC ACATTCTTCACGTCCGTTCGCAGCGTCACCCGGATCTTCGCCGCTACCCTTGT GGGCCCCCCGGCGACGCTTCCTGCTCCGCCCCTAAGTCGGGAAGGTTCCTTGC GGTTCGCGGCGTGCCGGACGTGACAAACGGAAGCCGCACGTCTCACTAGTACC CTCGCAGACGGACAGCGCCAGGGAGCAATGGCAGCGCGCCGACCGCGATGGGC TGTGGCCAATAGCGGCTGCTCAGCAGGGCGCGCCGAGAGCAGCGGCCGGGAAG GGGCGGTGCGGGAGGCGGGGTGTGGGGCGGTAGTGTGGGCCCTGTTCCTGCCC GCGCGGTGTTCCGCATTCTGCAAGCCTCCGGAGCGCACGTCGGCAGTCGGCTC CCTCGTTGACCGAATCACCGACCTCTCTCCCCAG
EF-1a	85	GAATTCAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCC CCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGG CGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGA GGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTC GCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGG CCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTG GCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGA GTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCC TGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTG TCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTG CGACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCAC ACTGGTATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCA GCGCACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGAC GGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGTCTCGCGCCGCCG TGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTG AGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGA CGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCC TTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTC CAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGG GGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAA

【０３０１】

【表１０７】

		GTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGA GTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTC TTCCATTTCAGGTGTCGTGACATCATTTT

【０３０２】

Ｄ．効率及び特異性

操作された非天然システムは、核酸標的化、切断、又は修飾における効率及び／又は特異性に関して評価され得る。

【０３０３】

特定の実施形態において、操作された非天然システムは、高い効率を有する。例えば、特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列及び同種ＰＡＭを有する核酸の集団の少なくとも１、１．５、２、２．５、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、又は１００％が、操作された非天然システムと接触されるとき、標的化、切断、又は修飾される。特定の実施形態において、細胞の集団の少なくとも５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、又は１００％のゲノムは、操作された非天然システムが細胞内に送達されるとき、標的化、切断、又は修飾される。

【０３０４】

所与のスペーサー配列について、オンターゲット事象の発生及びオフターゲット事象の発生が一般に相関していることが観察される。特定の治療目的では、より低いオンターゲット効率が、許容され得、低いオフターゲット頻度がより望ましい。例えば、対象に送達され、インビボで増殖する増殖性細胞を編集又は修飾する場合、オフターゲット事象に対する許容性は低い。送達前に、オンターゲット及びオフターゲット事象を評価し、それによって、所望の編集又は修飾を有し、望ましくない編集又は修飾を全く有さない１つ以上のコロニーを選択することが可能である。それにもかかわらず、オンターゲット効率は、治療的使用に好適であるように一定の基準を満たす必要があり得る。標準的なＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムにおける高い編集効率は、治療適用性を失うことなく、例えば、Ｃａｓタンパク質へのガイド核酸の結合を低減することによって、システムの調整を可能にする。

【０３０５】

特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列及び同種ＰＡＭを有する核酸の集団が、本明細書に開示される操作された非天然システムと接触されるとき、オフターゲット事象（例えば、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムの機能に応じて、標的化、切断、又は修飾）の頻度が減少される。オフターゲット事象を評価する方法が、Ｌａｚｚａｒｏｔｔｏ ｅｔ ａｌ．（２０１８）Ｎａｔ Ｐｒｏｔｏｃ．１３（１１）：２６１５～４２において要約されており、Ｗｉｅｎｅｒｔ ｅｔ ａｌ．（２０１９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３６４（６４３７）：２８６－８９に開示されるような、インサイチュＣａｓオフターゲットの発見及びシークエンシング（ＤＩＳＣＯＶＥＲ－ｓｅｑ）による検証；Ｋｌｅｉｎｓｔｉｖｅｒ ｅｔ ａｌ．（２０１６）Ｎａｔ． Ｂｉｏｔｅｃｈ．３４：８６９－７４に開示されるような、シークエンシング（ＧＵＩＤＥ－ｓｅｑ）によって可能になる二本鎖切断（ＤＳＢ）のゲノムワイド不偏同定；Ｋｏｃａｋ ｅｔ ａｌ．（２０１９）Ｎａｔ． Ｂｉｏｔｅｃｈ．３７：６５７－６６に記載されるような、シークエンシング（ＣＩＲＣＬＥ－ｓｅｑ）による切断効果のインビトロ報告のための環状化を含む。特定の実施形態において、オフターゲット事象は、所与のオフターゲット遺伝子座（例えば、オフターゲット事象の最も多くの発生が検出された遺伝子座）における標的化、切断、又は修飾を含む。特定の実施形態において、オフターゲット事象は、集合的に、検出可能なオフターゲット事象を有する全ての遺伝子座における標的化、切断、又は修飾を含む。

【０３０６】

特定の実施形態において、ゲノム突然変異は、任意のオフターゲット遺伝子座における細胞の０．０００１％、０．０００２％、０．０００３％、０．０００４％、０．０００５％、０．０００６％、０．０００７％、０．０００８％、０．０００９％、０．００１％、０．００２％、０．００３％、０．００４％、０．００５％、０．００６％、０．００７％、０．００８％、０．００９％、０．０１％、０．０２％、０．０３％、０．０４％、０．０５％、０．０６％、０．０７％、０．０８％、０．０９％、０．１％、０．２

％、０．３％、０．４％、０．５％、０．６％、０．７％、０．８％、０．９％、１％、２％、３％、４％、又は５％以下（全体で）検出される。特定の実施形態において、任意のオフターゲット事象を有する細胞のパーセンテージに対する、オンターゲット事象を有する細胞のパーセンテージの比率（例えば、任意のオフターゲット遺伝子座における突然変異を有する細胞のパーセンテージに対する、オンターゲット編集事象を有する細胞のパーセンテージの比率）は、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、９００、１０００、２０００、３０００、４０００、５０００、６０００、７０００、８０００、９０００、又は１００００である。遺伝的変異が、例えば、自然発生突然変異によって、細胞の集団内に存在してもよく、このような突然変異が、オフターゲット事象として含まれないことが理解される。

【０３０７】

Ｅ．マルチプレックス法

本明細書に開示されるゲノムＤＮＡを標的化、編集、及び／又は修飾する方法は、多重式で実施され得る。例えば、ターゲッター核酸のライブラリーが、複数のゲノム遺伝子座を標的にするために使用され得；ドナーテンプレートのライブラリーがまた、複数の挿入、欠失、及び／又は置換を生成するために使用され得る。マルチプレックスアッセイは、スクリーニング方法において行われ得、ここで、各別個の細胞培養物（例えば、９６ウェルプレート又は３８４ウェルプレートのウェル内）が、異なるターゲッターステム配列及び／又は異なるドナーテンプレートを有する異なるガイド核酸に曝露される。マルチプレックスアッセイはまた、選択方法において行われ得、ここで、細胞培養物が、異なるガイド核酸及び／又はドナーテンプレートの混合集団に曝露され、所望の特徴（例えば、機能性）を有する細胞が、有利な生存又は増殖、特定の薬剤に対する耐性、検出可能なタンパク質（例えば、フローサイトメトリーによって検出可能な蛍光タンパク質）の発現などによって濃縮又は選択される。

【０３０８】

特定の実施形態において、複数のガイド核酸及び／又は複数のドナーテンプレートは、飽和編集用に設計される。例えば、特定の実施形態において、目的の配列における各ヌクレオチド位置が、従来の４つ全ての塩基、Ａ、Ｔ、Ｇ及びＣのそれぞれで体系的に修飾される。他の実施形態において、目的の遺伝子のプールからの各遺伝子中の少なくとも１つの配列が、例えば、ＣＲＩＳＰＲ設計アルゴリズムに従って修飾される。特定の実施形態において、目的の外因性要素（例えば、タンパク質コード配列、非タンパク質コード遺伝子、調節要素）のプールからの各配列が、ゲノムの１つ以上の所与の遺伝子座に挿入される。

【０３０９】

典型的に研究目的のために行われるスクリーニング又は選択方法を行なう目的に好適なマルチプレックス方法が、治療目的に好適な方法と異なり得ることが理解される。例えば、特定の要素（例えば、Ｃａｓヌクレアーゼ及び／又はガイド核酸）の構成的発現が、増加したオフターゲット作用の可能性のため治療目的に望ましくないことがある。逆に、研究目的には、Ｃａｓヌクレアーゼ及び／又はガイド核酸の構成的発現が、望ましいことがある。例えば、構成的発現は、他の要素が導入され得る広い時間枠をもたらす。安定した細胞株が、構成的発現のために確立されるとき、単一の細胞内に共送達される必要がある外因性要素の数も減少される。したがって、特定の要素の構成的発現が、スクリーニング又は選択プロセスの効率を高め、複雑性を低減し得る。本明細書に開示されるシステムの特定の要素の誘導性発現も、同様の利点を考慮して、研究目的に使用され得る。発現は、外因性因子（例えば、小分子）によって、又は特定の細胞型（例えば、特定の分化段階の）に存在する内因性分子又は複合体によって誘導され得る。当該技術分野において公知の方法、例えば、本明細書に記載される方法が、１つ以上の要素を構成的に又は誘導的に発現させるために使用され得る。例えば、ＣＲＩＳＰＲヌクレアーゼの特異性は、スペーサーの独自性（必要なＰＡＭとのスペーサー配列の近接性と組み合わせて）によって少なく

とも部分的に決定され、そのオフターゲットスコアが、アルゴリズム、例えば、ｃｒｉｓｐｒ．ｍｉｔ．ｅｄｕを用いて計算され得る（Ｈｓｕ　ｅｔ　ａｌ．（２０１３）Ｎａｔ．　Ｂｉｏｔｅｃｈ．３１：８２７－８３２）。可能な限り最高のスコアは、１００であり、これは、高い特異性及びわずかなオフターゲットの可能性を示す。本発明者らのＳＨＳライブラリーが、遺伝子間領域を標的にするため、ｇＲＮＡ予測のためのアルゴリズムが、反復される領域及び低複雑度配列を用いてアラインメントを行うことができるはずである。

【０３１０】

複数の要素－シングルガイド核酸及びＣａｓタンパク質；又はターゲッター核酸、モジュレーター核酸、及びＣａｓタンパク質－を導入する必要性にかかわらず、これらの要素が、予め形成されたＲＮＰの単一の複合体として細胞内に送達され得ることがさらに理解される。したがって、スクリーニング又は選択プロセスの効率はまた、複数のＲＮＰ複合体を多重式に予め組み立てることによって達成され得る。

【０３１１】

特定の実施形態において、本明細書に開示される本方法は、スクリーニング又は選択プロセスにより、ガイド核酸、Ｃａｓタンパク質、ドナーテンプレート、又はこれらの要素の２つ以上の組合せを同定する工程をさらに含む。一組のバーコードが、例えば、２つの相同性アーム間のドナーテンプレートにおいて使用されて、同定を容易にすることができる。特定の実施形態において、本方法は、細胞の集団を採取すること；標的ヌクレオチド配列を含むゲノムＤＮＡ若しくはＲＮＡ試料及び／又はバーコードを選択的に増幅させること；及び／又は選択的に増幅されたゲノムＤＮＡ若しくはＲＮＡ試料及び／又はバーコードをシークエンシングすることをさらに含む。

【０３１２】

さらに、本発明は、複数のガイド核酸、例えば、本明細書に開示される複数のガイド核酸を含むライブラリーを提供する。別の態様において、本発明は、異なるガイド核酸、例えば、本明細書に開示される異なるガイド核酸に動作可能に連結される調節要素をそれぞれ含む複数の核酸を含むライブラリーを提供する。これらのライブラリーは、スクリーニング又は選択方法のために、１つ以上のＣａｓタンパク質又はＣａｓコード核酸、例えば、本明細書に開示されるもの、及び／又は１つ以上のドナーテンプレート、例えば、本明細書に開示されるものと組み合わせて使用され得る。

【０３１３】

Ｆ．ゲノムセーフハーバー

ゲノム操作は、遺伝子機能の理解を向上させ、中でも特に、遺伝性又は後天性疾患を治療するゲノム操作のための方法を開発するために、生物の遺伝子を修飾しようとする研究分野である。標的細胞のゲノムを修飾するために、当業者は、１つ以上の入手可能な手段を用いて、標的化位置においてゲノム内に変化を導入して、標的ポリヌクレオチド、例えば、標的遺伝子の配列を、所望の方式で修飾し、例えば、遺伝子発現を調節し、遺伝子配列を調節し、遺伝子配列を除去し、遺伝子、例えば、外因性ＤＮＡ、例えば、導入遺伝子を導入するなどを行う。効率的な導入遺伝子挿入が、限定はされないが、ウイルスベクター、例えば、レトロウイルスベクター、例えば、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）などを含む非精密方法、又は限定はされないが、誘導型ヌクレアーゼ、例えば、亜鉛フィンガーヌクレアーゼ（ＺＦＮ）、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）、ホーミングエンドヌクレアーゼ、例えば、制限エンドヌクレアーゼ、若しくは核酸誘導型ヌクレアーゼ、例えば、ＣＲＩＳＰＲ－ｃａｓ、例えば、Ｃａｓ９及びＣａｓ１２ａ並びにそれらの操作された形態を含む精密な方法によって達成され得る。

【０３１４】

ランダムに、例えば、レトロウイルスベクターを介して、又はタンデムな方式で、例えば、核酸誘導型ヌクレアーゼ、例えば、Ｃａｓの作用によって、標的ヒト細胞のゲノム内に挿入される外因性遺伝子、例えば、導入遺伝子が、予測できない方法で他のゲノム要素と相互作用し得る。ｃｉｓ及びｔｒａｎｓ調節要素、例えば、近位及び遠位エンハンサー

、並びに複数の転写因子のネットワークによる、哺乳動物細胞内における遺伝子の複合体転写調節のため、外因性ＤＮＡ、例えば、導入遺伝子、又は合成配列の組み込みによってデフォルトゲノム構造を改変する試みは、導入遺伝子自体の発現に影響を与え、これは、例えば、健康な細胞が有する安全性チェックポイントを損ない得、細胞挙動を劇的に変化させる、すなわち、クローン性増殖又は宿主の悪性転換を促進し得る鍵遺伝子、例えば、癌遺伝子及び腫瘍抑制遺伝子の発現の下方制御を含む、近位及び遠位の内因性遺伝子の両方の完全な減衰又は完全なサイレンシング、及び／又は発現をもたらし得る。

【０３１５】

癌原遺伝子の調節要素に隣接する遺伝子組み込みは、発癌性形質転換を引き起こすことが示されており、これは、治療用途のために細胞を操作する場合、特に重要である。したがって、導入遺伝子の挿入が、隣接する遺伝子の破壊を伴わずに導入遺伝子の好適な発現をもたらす、ヒトゲノムにおける標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドの同定が所望される。特に、遺伝子及び細胞治療用途では、導入遺伝子の挿入が、悪性転換又は移植後の個体に有害であろう何らかの他の破壊を伴わずに、治療用細胞、例えば、Ｔ細胞、例えば、ＣＡＲ　Ｔ細胞；又は前駆細胞、例えば、幹細胞、例えば、造血幹細胞内における導入遺伝子の十分な発現をもたらす、ヒトゲノム中の標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドが所望される。

【０３１６】

所望の細胞型及び／又は発達／分化段階における外因性遺伝子、例えば、導入遺伝子の発現は、候補の遺伝子座から、意図される目的のために十分な程度に、十分な発現をもたらす標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドへの組み込みに依存する。特定のゲノム部位からの発現は、限定はされないが、標的ポリヌクレオチドの１つ以上の構成要素が分化中に活性化される一方、他の構成要素がサイレンシングされる際、細胞型及び分化段階、並びにクロマチン構造の変化を含む多くの要因によって影響され得る。したがって、外因性ＤＮＡ、例えば、導入遺伝子の挿入が、標的ヒト細胞内における十分な発現をもたらし、幹細胞の場合、発現が、（１）分化によって及び（２）クローン性増殖によって十分なレベルに維持される、ヒトゲノムにおける標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドの同定が所望される。本開示は、外因性遺伝子を、例えば、導入遺伝子、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドに標的化及び相殺するための組成物及び方法を提供することによって、ヒトゲノムを操作する能力の大幅な進歩を提供する。

【０３１７】

ゲノム操作のための組成物及び方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態は、組成物を含む。特定の実施形態は、ゲノムを編集するための組成物を含む。本明細書に開示される実施形態は、標的ポリヌクレオチド中の標的ヌクレオチド配列に相補的な新規なガイド核酸（ｇＮＡ）、例えば、ｇＲＮＡに関する。本明細書で使用される場合、「標的ポリヌクレオチド」は、標的ヌクレオチド配列が位置するポリヌクレオチドを含む。本明細書で使用される場合、「標的ヌクレオチド配列」は、ガイド配列が結合し得る、例えば、相補性を有する配列を含み、ここで、標的ヌクレオチド配列とガイド配列との間の結合が、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体の活性を可能にし得る。本明細書に開示されるさらなる実施形態は、外因性ＤＮＡ、例えば、導入遺伝子の挿入が、細胞に悪影響を与えない、例えば、１つ以上の内因性遺伝子の発現に大きな影響を与えない又は細胞の悪性転換をもたらさない、標的ポリヌクレオチド中の標的ヌクレオチド配列に相補的な新規なｇＮＡ、例えば、ｇＲＮＡに関する。本明細書に開示されるさらなる実施形態において、ヒト標的細胞内で示される遺伝子発現が、細胞の最終使用のために十分なレベルで、ヒト標的細胞の分化によって、及び／又は１つ以上の子孫細胞の増殖によって維持される。本明細書に開示される特定の実施形態は、新規な核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体、例えば、ＲＮＰ、例えば、ｇＮＡに結合されたＣａｓに関し、これは、標的ポリヌクレオチド内の標的ヌクレオチド配列に相補的であり、標的ポリヌクレオチドの少なくとも１つの鎖における少なくとも１つの位置においてホスホジエステル骨格をハイブリダイズする（開裂又は切

断とも呼ばれる）。本明細書に開示される特定の実施形態は、ゲノム操作のために、ｇＮＡ、例えば、ｇＲＮＡを選択及び使用するための方法に関する。特定の実施形態は、標的ポリヌクレオチド内の標的ヌクレオチド配列に相補的なｇＮＡを使用し、ｇＮＡ及び核酸誘導型ヌクレアーゼを合成し、及び／又は核酸誘導型ヌクレアーゼをｇＮＡと組み合わせて、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体、例えば、ＲＮＰを形成するための方法に関する。本明細書に開示される特定の実施形態は、方法に関する。本明細書に開示される特定の実施形態は、ゲノムを操作するための方法に関する。本明細書に開示される特定の実施形態は、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体、例えば、ＲＮＰが、ドナーテンプレート、例えば、外因性ＤＮＡ、例えば導入遺伝子とともにヒト標的細胞内に導入される、例えば、トランスフェクトされる方法に関し、ここで、核酸誘導型ヌクレアーゼは、標的ポリヌクレオチドの鎖の少なくとも１つにおける少なくとも１つの位置において骨格を切断し、ドナーテンプレートを用いて、切断された標的ポリヌクレオチドを修復し、ドナーテンプレートの少なくとも一部を標的ポリヌクレオチド中に導入する。本明細書で使用される場合、「外因性ＤＮＡ」又は「導入遺伝子」は、それが内因性でない生物又は細胞のゲノム中に導入される、天然又は合成の任意の遺伝子を含む。導入遺伝子は、ヒト標的細胞内で発現される及び／又はＲＮＡ又はタンパク質を産生する能力を保持しても又は保持しなくてもよい。導入遺伝子は、ヒト標的細胞の得られる表現型を改変しても又は改変しなくてもよい。特定の実施形態は、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体、例えば、ＲＮＰが、例えば、外因性ＤＮＡ又は導入遺伝子、例えば、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）として、ドナーテンプレートとともにヒト標的細胞中に導入される、例えば、トランスフェクトされる方法によって生成される、ヒト標的細胞、例えば、真核細胞、例えば、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞、例えば、幹細胞又は免疫細胞を含み、ここで、核酸誘導型ヌクレアーゼは、標的ポリヌクレオチド中の標的配列において又はその近くで切断され、ドナーテンプレートを用いて、ドナーテンプレートの少なくとも一部を標的ポリヌクレオチド中に導入して、切断された標的ポリヌクレオチドを修復する。本明細書に開示される特定の実施形態は、外因性遺伝子、例えば、導入遺伝子に隣接するプロモーター配列を含み；ある場合に、プロモーターを含む構築物は、ヒト標的細胞、例えば、免疫細胞又は幹細胞の標的ポリヌクレオチド中に導入される場合、細胞又はその子孫の意図される目的のために、編集されたヒト標的細胞における十分な遺伝子発現を維持する。特定の実施形態において、ヒト標的細胞は、外因性ＤＮＡの導入後に生存している。

【０３１８】

本明細書で使用される場合、「ヒト標的細胞」は、外因性産物、例えば、タンパク質、核酸、又はそれらの組合せが導入された細胞を含む。ある場合に、ヒト標的細胞は、外因性ＤＮＡ、例えば、導入遺伝子、例えば、外因性タンパク質、例えば、ＣＡＲから遺伝子産物を産生するのに使用され得る。ある場合に、ヒト標的細胞は、標的ポリヌクレオチド内に標的ヌクレオチド配列を含んでいてもよく、ここで、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ハイブリダイズし、標的ヌクレオチド配列において又はその近くで標的ポリヌクレオチドの１つ以上の鎖における１つ以上の位置における切断部位において切断される。

【０３１９】

本明細書で使用される場合、「切断部位」は、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体が、標的ポリヌクレオチド中の標的ヌクレオチド配列に結合した後、一本鎖又は二本鎖標的ポリヌクレオチドのホスホジエステル骨格を加水分解する１つ又は複数の位置を含む。核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体の標的ポリヌクレオチドが二本鎖である特定の場合に、標的ポリヌクレオチド内の標的ヌクレオチド配列への核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体の結合が、標的ヌクレオチド配列において又はその近くで標的ポリヌクレオチドの鎖の１つの加水分解をもたらし、鎖切断をもたらし得る。このような場合、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体は、標的ポリヌクレオチドのいずれかの鎖を切断し得る。ある場合に、標的ポリヌクレオチド内の標的ヌクレオチド配列への核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体の結合が、標的ヌクレオチド配列において又はその近くで標的ポリヌクレオチドの両方の鎖の加水分解をもたらし、両方の鎖の切断をもたらし得る。切断部位は、両方の鎖について同じであり、平滑末端を

もたらし得、又は各鎖についての切断部位は、相殺されて、一本鎖オーバーハング、例えば、粘着末端をもたらし得る。ある場合に、切断部位における又はその近くにおけるミスマッチは、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体の切断効率に影響を与えることがあるか又は与えないことがある。

【０３２０】

ある場合に、癌原遺伝子の調節要素に隣接する無制御の遺伝子組み込みは、発癌性形質転換を引き起こすことが示されており、これは、治療用途のために細胞を操作する場合、特に重要である。したがって、ヒト標的細胞及びその得られる子孫における十分な発現を伴う外因性ＤＮＡの安全で安定した組み込みをもたらす標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドを同定することが所望される。

【０３２１】

ヒト標的細胞ゲノム活性における潜在的に有害な変化を伴わずに予測可能な機能を示し得る標的ヌクレオチド配列の例示的な特徴は、（１）公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れている、（２）任意のｍｉＲＮＡ／他の機能的低分子ＲＮＡから＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れている、（３）任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れている、（４）任意の複製起点から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れている、（５）任意の超保存要素から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れている、（６）低い転写活性を示す、（７）コピー数可変領域の外側である、（８）オープンクロマチンに位置する、及び（９）唯一である、すなわち、ゲノム当たり１コピーのうちの１つ以上を含む。

【０３２２】

特定の実施形態において、組成物が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、ヒト標的細胞の標的ポリヌクレオチド内の好適な標的ヌクレオチド配列においてヒト標的細胞を操作するための組成物が、本明細書において提供される。

【０３２３】

特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、例示的な特徴の少なくとも１つを有する。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、例示的な特徴の少なくとも２つを有する。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、例示的な特徴の少なくとも３つを有する。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、例示的な特徴の少なくとも４つを有する。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、例示的な特徴の少なくとも５つを有する。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、例示的な特徴の少なくとも６つを有する。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、例示的な特徴の少なくとも７つを有する。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、例示的な特徴の少なくとも８つを有する。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、全ての例示的な特徴を有する。

【０３２４】

特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れている。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも１つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも２つのさらな

る例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも３つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも４つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも５つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも６つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも７つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、８つ全てのさらなる例示的な特徴をさらに含む。

【０３２５】

特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れている。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、少なくとも１つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、少なくとも２つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、少なくとも３つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、少なくとも４つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、少なくとも５つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、少なくとも６つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、少なくとも７つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、８つ全てのさらなる例示的な特徴をさらに含む。

【０３２６】

特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れている。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なく

とも１つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも２つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも３つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも４つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも５つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、少なくとも６つのさらなる例示的な特徴をさらに含む。特定の実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、公知の癌関連遺伝子から＞１５０ｋｂ、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れており、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、７つ全てのさらなる例示的な特徴をさらに含む。

【０３２７】

好ましい実施形態において、好適な標的ポリヌクレオチドは、任意の５’遺伝子末端から＞１０ｋｂ、例えば、＞２０、例えば、＞３０、及びある場合には、＞５０ｋｂ離れており、公知の癌関連遺伝子から＞１５０、例えば、＞２００、例えば、＞２５０、及びある場合には、＞３００ｋｂ離れている。

【０３２８】

特定の実施形態において、例えば、導入遺伝子挿入のために、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、表７の配列番号２０２０～２０４３のいずれか１つを含み得る。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４３のいずれか１つと少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、少なくとも９９．１％、少なくとも９９．２％、少なくとも９９．３％、少なくとも９９．４％、少なくとも９９．５％、少なくとも９９．６％、少なくとも９９．７％、少なくとも９９．８％、少なくとも９９．９％、又は完全に同一である。好ましい実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４３のいずれか１つと少なくとも９８％同一である。より好ましい実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４３のいずれか１つと少なくとも９９％同一である。

【０３２９】

特定の実施形態において、例えば、導入遺伝子挿入のために、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、表７の配列番号２０２０～２０４２のいずれか１つを含み得る。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４２のいずれか１つと少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％

、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、少なくとも９９．１％、少なくとも９９．２％、少なくとも９９．３％、少なくとも９９．４％、少なくとも９９．５％、少なくとも９９．６％、少なくとも９９．７％、少なくとも９９．８％、少なくとも９９．９％、又は完全に同一である。好ましい実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４２のいずれか１つと少なくとも９８％同一である。より好ましい実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４２のいずれか１つと少なくとも９９％同一である。

【０３３０】

特定の実施形態において、例えば、導入遺伝子挿入のために、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、表７の配列番号２０２０～２０４１及び２０４３のいずれか１つを含み得る。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４１及び２０４３のいずれか１つと少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、少なくとも９９．１％、少なくとも９９．２％、少なくとも９９．３％、少なくとも９９．４％、少なくとも９９．５％、少なくとも９９．６％、少なくとも９９．７％、少なくとも９９．８％、少なくとも９９．９％、又は完全に同一である。好ましい実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４１及び２０４３のいずれか１つと少なくとも９８％同一である。より好ましい実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４１及び２０４３のいずれか１つと少なくとも９９％同一である。

【０３３１】

特定の実施形態において、例えば、導入遺伝子挿入のために、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、表７の配列番号２０２０～２０４１のいずれか１つを含み得る。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４１のいずれか１つと少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、少なくとも９９．１％、少なくとも９９．２％、少なくとも９９．３％、少なくとも９９．４％、少なくとも９９．５％、少なくとも９９．６％、少なくとも９９．７％、少なくとも９９．８％、少なくとも９９．９％、又は完全に同一である。好ましい実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４１のいずれか１つと少なくとも９８％同一である。より好ましい実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０４１のいずれか１つと少なくとも９９％同一である。

【０３３２】

特定の実施形態において、例えば、導入遺伝子挿入のために、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、表７の配列番号２０２０～２０３０のいずれか１つの少なくとも一部、例えば、ヌクレオチド１～４９５、１～４９０、１～４８５、１～４８０、１～４７５、１～４７０、１～４６５、１～４６０、１～４５５、１～４５０、１～４４５、１～４４０、１～４３５、１～４３０、１～４２５、１～４２０、１～４１５、１～４１０、１～４０５、又は１～４００を含み得る。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０２０～２０３０のいずれか１つの一部と少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、少なくとも９９．１％、少なくとも９９．２％、少なくとも９９．３％、少なくとも９９．４％、少なくとも９９．５％、少なくとも９９．６％、少なくとも９９．７％、少なくとも９９．８％、少なくとも９９．９％、又

は完全に同一である。

【０３３３】

特定の実施形態において、例えば、導入遺伝子挿入のために、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、表７の配列番号２０３１～２０４１のいずれか１つの少なくとも一部、例えば、ヌクレオチド５～５００、１０～５００、１５～５００、２０～５００、２５～５００、３０～５００、３５～５００、４０～５００、４５～５００、５０～５００、５５～５００、６０～５００、６５～５００、７０～５００、７５～５００、８０～５００、８５～５００、９０～５００、９５～５００、又は１００～５００を含み得る。特定の実施形態において、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、配列番号２０３１～２０４１のいずれか１つの一部と少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、少なくとも９９．１％、少なくとも９９．２％、少なくとも９９．３％、少なくとも９９．４％、少なくとも９９．５％、少なくとも９９．６％、少なくとも９９．７％、少なくとも９９．８％、少なくとも９９．９％、又は完全に同一である。

【０３３４】

【表１０８】

表7 導入遺伝子挿入のための標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチド

配列番号	配列
2020	GCCTCCCAAAGTGCTGAGATTATGGGCATGAGCCACCGCACCTGGCCCTGAC AAGAACCTTTGAGTTAGGTATAATGGTTCACCCCAATTTATAGATAATGAAC CCAAGTCACAGGGGAAGTGAAGTCAGTTGCCTAAGGTCAGACAGCAGTAAAT GGTTCTCTGACCCTAACTCCACTGCCTCCCTCTCATAAAAACACTGGGTGGT TACAGTGGGCCCACCTGGAGAAGTCAAGCTATTCTCTCCATCTCAAGAACAT TAATTTAATCATCCTTTTTACCATATAAGATAACATCTTCACAGGTTCTGAG

【０３３５】

【表１０９】

配列番号	配列
	GATGAGAATGTTGACATCTTTGGGTGGTCGTTATTCAGCCTATCACAGGTAT CCAGGGAAGAAAAAAGGAATTTCCAAAAAGAGAAAATACGAACATTGGGAAG GCTAATTACAGATGGTGACTACTGAAGGGTTAGTCAGAAGCATAATGGAGGC AGTGATGAGATGACAGCACAGATGCATGACTCTAGTCCCAGCAACTCCTAAA AGGTAAAGAAATGTATCCTGCCACCCTCAGCTTCTTTGGGGTGTCCTCATAA AAGAGAGGCAGTAAAGCAGAATCAGAGTCAGATAGAGAGGTTGTAAGAAGAG AAGCAGAGGTGAGTAAGCTGTGTTTCAAACCCAGAGTCAAGGCTCTTGCCCC TCTGCGGTGCTGCCGAAGCCCAGGGTGGGTGGGGACTGACATGCAACTCAGG TACTGTGTGGCAGACTTTGTGCCTTGGCATGAAACTATGCCTGCCCACAGGA AGGGGCACCATTTTCTCATTAGCTCAAAGAGACTTCTGCTGGCCAATTCCTG TCTTCTCAATACTGCAGCTCTCCAGAGACAACACTGTTCTCTATTCTCCTGT AAGTGAGGCAGAGCCTGGCAGTACCCTCTATGCCACCTCTCACTAGTACAGG TTAGCACTCAGGGTGGCCCACTGGTGTGTGTCTCAGCTGCTGGTGTGCGTGC TGGTGCAGGTAC
2021	TGGGCTGAGGGTTGTGGCTGGATCTCTTTGCATTGCCACATCCACAACAGAA TTTTGAGAAGTCCGAGAATTCTAAATTGGAGCCTGACCTTCTTCATAATAGT ATATTTGTCAAGGTAGGAGGATAAAACATTTTATTGAACAGTTTGCTAAGCT GATTTAAAATTTTCCAGCATTTAGCTATATGGTATATGGACCTCCACATGTA TGATTTCATTTATATTAAATGTCCAGAATAGACAAATCTATAATGACAATAA AGAGATTAGTAGTTGCCAGAGGCTGGGAGGAGGGGAGAAACAATGAGTGATT GCGGACGGGTGTGGGGTTTCTTTCTGGGGCGATAACAGTGTCCTGGAATTCA ATAGTGATAATGGATGCACACTGTGAATATACTAAAAGCCACTCACACTTTA AAAGTGTGGGTTTTATGGTAATTTGAATGATATATCAAGCTATCACCAAAAA TACACAATGGGAGTTCAGAAATGCCACCCCAAACTATGATGATTTGACATGC TCATTACTTTGAACTGATGTCACTTGGGGAAAAACAGATGCAGGCAGAGACT TTCTCTGAGATCTGCTTATCTGCCTAAGACAGATCAAGGGATCCTCCAAAAG GAACTCAATTGTCATGAATCCCCTCCCCTGGAACCTTATCAACCAGGGACAA TGAACTTAGATCAGAGAGGGGGAGACTGGAGGTTGACATCATGCCTAGACAG CCACCTCTTCTTCTGAGGGCTGCTCCAAGAGAACCTTTATTACTTGAGAGGC TTCTCATTTGCATAACAAGAAACCTTTGTTCACCATACACTTCCTCCCCTCA TATTCTCATAACTGGTGTCACCACCACCCACGCAGAAGTCCAAAGCCTCTAT TCCCTTCTGTACCTCAGGGTGCTATATAAGCTTCAATCATCTGACCCTTCTT TGAATCTCATATTTTGTGGGCTTGCATGGGTATGTACATAATTAAAAATGGA TTTCCTCTTGTT

【０３３６】

【表１１０】

配列番号	配列
2022	ATTTACACACATGCCACAGACAGAAACATTTTAATAGACCTTTGCTTATGGA AAAGTAAAGCAAAAATGTAATTCTAGAAGGGAGAAATTTTAGTCAATTAGAA AATAAGATGGTCAGGCATTGTAGCTCTCATGTGTAATCCCAGTGCTTTGGAA GGTTGAGGCGAGAGGATTGCTTGAGACCAGGAGTTTGCGACCAGCCTAGACA ACATAGCTGGTCATATAAAAAAACTTCAAAAAAATTAGCTAGCTGTAGAGCT TTCTGCCTATATTTCCAGCTACTCAAGGATGAGGCAAAAGAATCCCTTAAGC CCAGGAGGTTGAGGTTGCAGTGAACTGTAATTGCACCACCACACTCTAGCCT GGGTAACAGAGCAAGGTCCCATCTCCTAAAAAAAAAAGAAAGGAAAATAAAA AGAAAATAAACTATTCTCCATAATAATGTAGACAGCAATCCTCACTGTGAAC CAGAAGGAACCTCGGCAAATTTTTTAGACATCAATGGGATTTCACTATCAGC TGAGAGTGTTCCCTTTTTAGCATGGCAAGCTGTTTCCTGAAGCAATAGAGAG AAGCAAGACCAAGGAAAAATCTAGAAAGAGCCTCTCTGTAGAAAAGCAGAGC AATGATCTCTAATCACAATGCTATCAAATATTCCAGGCTAAATTTTCCTTTA TAGCATTAAAATTTTCCTCACATCCACAAGATTCCAATAGTTTTCTTAATGC CATAGCCTGGTGTCTATTCTGCCTTGTGGATTCCCATAATGCAAAATGCCAT TAAAAAAGGAACAGACCATGAGAAGTGGGCCTCCGAAGCACATGAAGCTTGG TATCATCAGAAAGATAAGGGGCAACAGTCAGGAATAATTGTTGGGACATTTA ATAAGTCCCTGGAAATTCCTAGAAACATAATTTTTTTTTGAGTCTAAGATGC TATCATTTTAAGGTGCACCATTATTTTATTTGCTACAATGTAGAAAACAATA ACACTGCCAATT
2023	TGATTAGGTAAAATATCAGAGACACAAATCAGGTTAAATTGATTTTTTATTG TAATTACATTTAAAATTTTAGAATTCATCAGTAGGTATGAACAAACATATAC ATACATATATATAATTTATATTATAAGTTTATTATTTATACTATACATTATA AAAATAACTGAGAGATAAACTTTCGTTTATCCTTAATGCTAAAATAATTCAT TTACCTTGGAGAGATCAGAACTCTGTCCATTTCCCCTACATAAAAACTAGAG AGTACTATTGCTTTCTCTTTCTCGGGCTTACTCTGGTCTCATAGAATATGCA TTTTCATTTTTTTTCAACAGAATATCCGTGGATAGCTAAAATTTCTGCTTCC TTTGTCAACATTTGTATTTCCCCAGTGGACATTTCTGCAAAATTTATTTTCA TTTCTTTGTTACCAGAGAAACTCTGTTGGTCAAGTTCAATAGCATCCTCAGC ATAATTTCAGAAGGAAATTACAGGGAGCAATTGAAGTCCATCACTTTCTTGG AGGGGAAATATTAACACCCTCACCTCTTGCTCCCAATATTAGGTGGTAGGCA GGAGTGAGTTACTCATTTTCTGAAGGAGCAGTAACTCTTTGGACCCCTCGAG TCACTTGGTAAATAAACTCTAGCACTGCCCCGAAGAGTGCCTCAGAGATTTC AAGGAATAAATGCTTTAAAGGTAGGAAAATGCTAAGAAACACCATCATATAA

【０３３７】

【表１１１】

配列番号	配列
	GTGAGTTATTTCCAATTTTATTTTAAATACAGCCATATATTATTACATACAG CCACACATTATTAAATAATGTATTAATACATTATTATTAAATACAGCCATAT ATATGTATATATGTGTGTGTGTATATATATACATATATATGTAAGTATGTAG CTGCTATACCCTCCTGAAGCAATGAATGTAGCTGCTATACCCTCCAGAAGCA ATGATACCCTCCAGAGGTGATAACAGATACAAGTAACAACCACACTCTCTGG TTTTGACAACCA
2024	CAGAGAGCTTCCAAGGCATTATCCCATCCAAAGGGTAAAGAGGCTGGGATAT TTATCGACTAGCTCCCATTCTTCACTGGCTGTAACTTGTCCACGTCTCACAG CTGTAACTCCCTTGTATTCCCTACCTATCTGGTGTGAGGACCAAGCTTGTGT CTGTGGATAGAGAAAGCCCTAAAGCAGAAAGTCTAGGTGCTTGCACAAAAAG ATCATCTGCACAGAATGATGATCAAGAGATGTGAGTGGGGCACCACAACATT TACCTCAGGAATCTCTGTTCAGGACTCAGCTTTGGTCTCAAACCTTGGGAAG CTTATACACTGAGGCAGTGTTAGGATCTCTTTTCTCTGCCTTCCTGTGCTTT TAAGTGTATTTCACTGTTTTTGATCCCTTGTCTGCCCCTTATATTTGACTAT CAGGCTCTTGAAGGTCTATTACACTTACTCATTGTTTTTACCCCCTGTTCCT ATCTCAGTGCCCAACACAGAGCTGACAGTTAATATATGTTGGTTGGATGCAT GTGTGGGTATCTTATCTTTTTATCCTTTAAAAGACCTCACACGTAGATGAAA ATTTTAAAATCATTAATTCAATCATCAATTCAATTCAATCATCTTTTTATCC TTTAAAAGACCTCACACATTGATGAAAATTTTAAAATCATTAATTCAATTGA AGAGGCCTTGTGATTGACATGAGTATAAATTGGACCATTATTAACTTCAAAC TAATTCTACTATGCCAGAAACCATGCCTGAAGTATTAAAACATCACGTTAAA AAACAAAAGACAAAAAAAAAACTTATCTAAAAAATTACATTAAATAAAATAG ACCAAAGGTAAATCTTACTCAAGTTTTCAGGAAAAAAAAATTGTTTTCTATA CTCTTTTCTCACCTATTCTTCCTTGTCACAGAGAAGCAATTATTATATTAGA CTTTCCTTTTTCAATGTGTAGATGACATCATATGATTTAAATTTTTTATGTA TTTCTCTTGCAA
2025	ATCAGCAGCAGAGGCTGCAGAACAGCGGATATTAGTGAAAAGCAAATGTTGC TGTCTGATCGTTCCTGTGGAAGTTTTGTCTCAGAGGAGTACCCGGCCGTGTG AGGTGTCAGTCTGCCCCTACTCGGGGGTGCCTCCCAGTTAGGCTACTCAGGG GTCAGGGACCCACTTGAGGAGGCAGTCTGTCTGTTCTCAGATCTCAAGCTGT GTGCTGGGAGAACCACTACTCTCTTCAAAGCTGTCAGACAGGGACATTTAAG TCTGCAGAGGTTTCTGCTGCCTTTTGTTGGGCTATGCCCTGCCCCCAGAGGT GGAGTCTACAGAGACAGGCAGGCCTTGAGCTGCAGTGGGCTCCACCCAGTTC GAGCTTCCTGGCTGCTTTGTTTACCTACAATGGTGGGCTCCCCTCCCCCAGC

【０３３８】

【表１１２】

配列番号	配列
	CTTGCTGCTGCCTTGCAGTTTGATCTCAGACTGCTGTGCTAGCAATGAGCGA GGCTCCATGGGCGTAGGACCCTCCGAGCCAGGTGGGATACAATCTTCTAGTT TGCTGTTTGCTAGGACCATTGGAAAAGCACAGTATTAGGGTGGGAGTGACCC GATTTTCCAGGTGCTGTCTGTCACCCCTTTCCTTGGCTAGGAAAGGGAATTC CCTGACCCCTTGCGCTTCCTGGGTGAGGTGATGCCTTGCCCTGCTTCGGCTC ATGCTCAGTGCACTGCACCCACTGTCTTGCACCCACTGTCCGACAATCCCCA GTGTGATGAACCCGGTACCTCAGTTGGAAATGCAGAAATCATTCATCTTCTG AGTCACTCACGCTGGGAGCTGTAGACTGGAGCTGTTCCTATTCGGCCATCTA CATGTTCTTTCTTCCCTCATCATCACTTCTTTACTTCTTTTATTTCACTTCT GGCTTTCTGTCCTCCCACGCTGAGGAAGACTGATTTGGTGGACATGTATTTA TTCTGCTGAGTACCAGTTGATGTGGAAGTAGTTGTTTTATAGTCAACATGTT TTTATGACTAAT
2026	GAGTGATGTCTAATCACAATCTGTGATAGGTATTTGCTTTAAGGTGCATCTA ATAACATGACAGTGATTTTCATCTCATATAACCTTCATTAACTCTGGTTCCC TGCTAAGATAAAGCCTTCCCTATAAGCCAACTGAGAATACTGTAGTCAGAAT TTACAGGTACTTCCCATTGTGGTTGTTCACCTTATTTGTGCCAGTTTTTCTT CTTCTTTATTCATACCTTTTGCCATGTGAATTTGCATTTCTTCTGGGTTGGA GTCAAGTATATATTTATCCTTTTTACCTTTGACTCTGAGGCTGGCCAAAGGA ATAAGGTGGATGTGACAAGGTACAATTTCTGAGCCTAGCCCTTAGAGGCCTT CCATGTTTCCACTTGTTCTCTTGCACTTGCGACGTTGCTGTCAAAAGAACAT GCAATGGCTAGCTAGCAGCCTGTGCACCTGCAGTGAGAACCAGAGCCACCCA GTTGCTGCAGCCTGAGACCAAGCTGCTCAGCTAAGCATAGCTTAGATCACCA TTGAGTTCTGAGGTGGTTTGTCATACAGCAATGGCAATCAGATATATCCACA CAAATATAATTTTAGTTTATATTTTTGTTACTGCAGTTCTCATCTTATTCTG AGGATACGTGACAAAATAATTCTTTCAAAAATATTGATGCTGTGCCAGATTA CTATTTTGAATGAATTATTAGACAAATACTTCATATGTATCTTATTATGTGG GTTTACACATTATTTATCTTATTGATTTAACTTCAAAACTAAACTTTAGTTT AGCTCTTGGGCCCTATCTGGGAAAGGGTCATCTTTTAATCACCATTAAATCA CTGAAGTCATCAGTTTATTCAAAGTACTCTGCACAAAATTAGCATTCTTTAG TGGTTGTGAAATAAATAGACTTTAAACTTATCATTAATATTCCCAATGGTAC TATGGGGGAGGCAAAATTTTCTATCTTCTTAGTGGTTTTTTTTTTTTTGGCT AGGGCTAAGGAT
2027	ACGCACCTGAGAAATGTGTTAAGGATTAAGATGCTAGTGCTAGATGTTTGAT TTTCTGAATCGAACCACTATTGGTGAGATCCAGAAGCTCAAAGACATGATAT

【０３３９】

【表１１３】

配列番号	配列
	ACCCACCTTCAAATAATGTTTATGTAGGTAATCTATTCTCAGGATTTATAGA CACTGCTGTTAAGACCTATTGTCATTGGGGTAAAAAAAAATCCTTATTATAT TATACAAATTATTATATACTATTATATTATAGAAATTATATTTCTATTAAAT AGCTTGTGTAGAAAGTAACCATATATAGTTAGAAAAACACTGATCTCAAGAA CAGGATTTTAGATTTGACTCTGACAATTTCTGTTCGGTCTTGTATAAATGTA TCAATTTAGATTTAGGGCTTTATTTTCTAATCCATAAAATGTGTAGCATACT TCTGCTAGCTATACATTTACTGAAGTTATTATTTTAAACTATTTTTATTTTC ATTTTTTTGTTTTGAGTTATAATCATAATTAATGGATTCAAGTGACAGAGAA AAGAAAGTAATTAGTCATCTTTTTTCAGAATACAGTCTTTGTTCTGAAGGTA TTTCGTATGAATCAAGTTTCAAATCTTCAGATAAATTTTCACCTTGCCAATG TGCTTTCTGCTCTAAATCATTCCTGAATTTTGCTATGATTTTTCTTTCTTAT AAAATCTTGACACTAAATTGTCAGGAGATATACATATATGTATATATGTAAA ATATATATATCATATATAAATATATATAAATTTTGAGTTAAAGTACTATTAC AGTATTCAATTCTACCAGTAATTCTAATAGTATGAAAATAAAGTCACCAGTT GAAGTAAGACCTACTGACACCTTCTATTATATTTCGATAATTCTATTTGAAA CTAATTATATAGTAGGACATTTTCATTGTTTTCAGTATTAACTGGCACTCAT GTAGATATTGCAGGCCAAATTTTACCTCTACCTTTTGGAATTTTCTGGGGTA GACTTGAGAATT
2028	TACATGTGTAAACAGTTTTAGCGTAGATTTCCTCGCACTTTTAAATTTTGGA TTCTTAATTTCCCTGTCCCCCCTGCCCCCCCCCCCAAAAAAAACCTGCTAACG TTTAAACGAACACAGTTTGGGAAATCTGCGTTAAGTCCTTCGTGGGAGTGGG GTTGCTCAGCTCACAGTAGGCCACGAACCTGAATTTTCTCTTGTCTGCTGCC CCCTTTTGATAGATGGAGGGAAGAGCAGGCTTCCAGTGCAATGGACAGAAGA GGGAGCCTGCAAGTTGGTAACAGAGTCTATTAGGGAAAGAGAGAGTCACTTG AATCCTCAGAGCTGCTCCTGTCAACTGCTTTGTGCAGTTTTTGTGACTTATT AGCTGCTTGTTTGCACTCTATCTACGCCTGCCCAGGTGTGTTTGGGCCCTAG AGCGAAGGGAGCACAGGCGTTCATTTAGAAACTTATCCCTCCGTCCAAATAT TGGATGCTTACCATGTGCCTGGTGCAATGCAGGGTGATACAAAGAGGAAGAT AAGTGAGGCATTCTTATCGAAGGACCAGACACTCTTCCAGCCTGACTATATT CATTACACTCGTGCCTGACCTTTCTTTGACTCTAAGATTCTTCCTTTCTAAA TGTGAATCTTAAAGACTGAAGTCTTTGATCTAAGACTGCTTTCTTATCACAT CACATCCAACAACCAACTTTTCACAGCTTCCCAGATCCCAAATTCTGTTTAG CAAGGACACTTGGATTTTTTTGTTTTTTGTTATAAATGACCTCTTCAGGTTC ATATTTTCACTATGTCCAGAATTCTTATTTTATTCTGTTTTGTGCTGACATT

【０３４０】

【表１１４】

配列番号	配列
	GGAGGCAGAGTCTGTGTCACAGAATACACCACTAGGGGTTACCCTGGACATG GAAGGGTATTCACTCGGGGAAGAAATTTTAATGGAATTTTTAATATCTAGAG CTGTCATTATCCTGTGATGGTTCACAAGAAATGGAACACTTAAAAATTTCTA CAGAAAAAAAGG
2029	GCCACAAATTTGTTTTCTGTATCTGTAGATTTGCATTTTTTTCCGAACATCT CATATGAATAGAATCACAAAATTTGTGTATTTTGTGCCAAACTTCTTTCACT TAGCATACTGATTTCAAAATTGATCCAACTTATAGCATATATCAGTACTTTA TTCCTTTTTAGGGCAAAGAAATCTTCCATTACACGGATACCCCACATTTTAT TTCTCTACCCATCGCTTGCTGGGCATGAGTTGTTTGTGACAAATATTCATAT ACATATTCTTGTGTGGACATATGTTTTCGCTTCTCTTGGGTATATATCTAGG AGTAGGATTGCTGGGTCATATGGTAAGTCTCTATTTAATGGTTTAGACTCAG TACTTTGTTTTCTGCCTTTCCACAGCTCAGTTTCATAAAGAGGCAGGAGCCT TTTGTTCAGGGCTCCTTGGCAGTAAGGTAATTTCTTCTTCTGCATTGTATCC AGCTGACCCTTGCTCAGTGCTGTTCTTTGGGGGAAAGATGGAATGCTGGGAA GCCAGCACCTCTTATTCCTTCTAGCTAACACTTTTACAGTGACGGATATAAT AGATATCTTCAACTAGTATTGTTGAATTATCTCCCTGATGCTGTCCAATTTT GCTTCATATATTTTGGGGCTCTGTTATTAGGTATGCATATATAGTCATTATT GTTATATCTTTGTGGTGGTGTGGCCTTTTTATTATTTTAGCACTTTTATATC TTTACCTCTAATAACGTTTTTAAAAATTGAACGTTGATTTTGTCTGATGTTA GTACAACCACTTCAGCTTCTTTGTAGTTGCTGTTTGCATGACATATCTTTCT CCATTCTTTTACTTTCAATCTATTTGTATCTCTGGGTCTAAAATGTGTAGAT AGCACATAGTTGAATCTTTTAAAAAATACATTTTACAATCTCTGATTTTTAT TGGAATGTTTAATCCATCCACATTTAATGTTACGATTGATGGAGCTGGACTT ATTTCTGCCATA
2030	AACACAGAGCTAAAACCAAGTAAGAGGCGATTCTCCAAAAGCACTTCCTCAG CAAACAGCATATCTATTGTGTGTGGGTTCTTTAATTGGCTGAGAACTGAATT TCACCTTTGGCATTAAAGAGAAGTGTTTATTTTTACTGTCTTCACTGTTTTA ATGTTTAAACAAAATCTAAATACTGAGGTGAACTCTATCATAAAACAAGTGA AACGGCAACATAGGTTGATCCAGAAAGAAGCAAATTCCAGCATGGCGGGCAC TACATGTTTCAGCTCATCAGTTATCTGAATCTTATGGCTCTAAAGATGGATG GATGAGAATACATAGGCAGAAGCTTCCTGGTGAGGCTGGTATGATTCTGTTG TCCTATCTTCAACACTATCCTTCTACCTTCAGGGTTGCTGTTGTAGGTTTTA TTTCTTTGGCTTCTGTTGCCAGTAATGGAAAAGGACCACATGGAAGACTGTA TTTATGTACATCATGTCCAAACAGAATATCCTATAATAGTGAATCTTGGAAG

【０３４１】

【表１１５】

配列番号	配列
	AAAGCTTGAGAGATGTGGCCCAGCGCGGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCA CTTTGGGAGACTGAGGTGGGCTGATCACGAGGTCAGGAGTTCGAGACCAGTG TGACCAACATGGTGAAACCCCATCTCTACTAAAAAGACAAAAATTAGCCGGG CCTGGTGGTGTTGCACCCGTAATCCCAGCTACCCAGGAGGCTGAGGCAGGAG AATTGCTTGAACCCAGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGCCAAGATCGTACCACT GCACTCCAGCCCTCCAGCCTGGACAACAGAGCAAGACTCTGTCTCAAAAGAA AAAAAAAATACCAGTTTGAGAGATGTATGTGAGGACTGATTACCGAAAGCGA AAGGGTTTAGTACATCTCATGAGAACAGAGCAGTCACAAGTGATATAAACCA AACTCCCTTGGAAATTTGTAATCTATCAACTTCTTTATTTAAAGAGAATAGG AGGTTTACTGTG
2031	ACTCCCACTCCTACTAATTACAGCTTGTGTGTCCTTCAGTCATTCACTTCCC TTCACATGACCAGCCCAGCAGAAATGAACTACCAGGAACATGAGCTCAGAGC GATGGGCTGGCCACCTGCCAAGCACCTCTGAATGGAAAGAGCAGAATTTTGC ATTGCCTGCCATGCCACGTGGAGCAGGCCCTGGGTGGCTCTTTAGGGGATGG GTGTGGACTCCCACAACAAAACCAAGGGCCATATTCAAAGTTAAAAGCTCTG CCATAGATGGTATTTGTTGAGGCTGTGTGTGGTAGCTCATGCATGTATGCCC AACACTTTAGGAGGCTGAGGTGGGAAGATCACTTGAGGCTGGGAGTTCAAGT CTAGCCTAGGCAAGATAGTGAGATCCCTTCTCTAAAAAAGATAAAATATTAA CTGGGCATCATGGACGTGCCTGTAGCCCCAGCTACTGGGGAGGCTGAGGCAG GAGGATGGCTTGAGTCCAGGAGTTTGAGACTGCAGTGAGCTGTGATTGCACC ATTGCTCCCTAGCCCGGGTGACAGAACAAGACTTTTATTTCTTTAAAAAAAA AAAAAAAAAAGAAGGTGTTTACTGCAGTTGCTTTATTAAAAAAAAAGTAAAT GAATGTTCTGACTGTTCTACTTTTGAAAATAAGTGGCAAGGAATTAGAACTG TATCTTTCAGCAACAAAATGTACACTGTGGTTCCATGTCACAGCCAGGAATG GAGTCAGATGTCTCAGACCAGAATCACAGCTCTGCCACCTCCTGTGACATGG ACTTGCTAAGCTACCTTGACTCTCTGGAGCTCACTATGCCCATCAATAACAA GAAATAAATAAATCCGTCCTGTAAGGTTGTCAGGAGAAACAAATGAGGCACT ATATGTGGAAGTTCCTGGAATAGTGACCAGCACAGAGGACGTCTCAAAGAAA GATTTGCTGAACCCCAAAAGACAGGAGGACTGGAGGAACAACAAAGAGACAG GAAAGCTAGCAT
2032	AATTCATAGCCCAGCCAAGGAACTTAGAAGAGTAGAGGGAAGTCATTTTTCA CTCCCCTACAAGAACATTCTGCTGTAAAGAGGAGCTAGAAATAATTTTTGTT TTAAATTCAACCAAACATAGGGATAATTCTGAAATTTGGAACCAAAAGAATT ATAAGTACACTACTGGTGAATTTGTGCTTATCTGAAATCTACACATGTAGCT

【０３４２】

【表１１６】

配列番号	配列
	GTCTTTATGTATCTCTGTATATCGATGTTTTTCTATATATATAATCAGTGAA GTAAGATATCTAGTCATTCATTTACTCACCAAGTGATTGCAGTGGGGTGACA GGGACAGTGGGGGGTGTGGTGGCGGGTTGCCAGAGCATGAGGAGTATGCAAT AGAATCTAAGAAATCATACCTACCTGGCCAGGCACAGTTGCTCATGCCTGTA ATCCCAGCACTTTGGGAGGCAGAGGCAGGCGGATCACTTGAGGTCAGGAGTT CCAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAATCCCATCTCTACTAAAAATACAAA AAATACAAAAAATTAGCTGGGTGTGGTGGCACATGCCTGTAATCCTGGCTAC TCTGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGCTTGAACCTGGGAGGCAGAGGCTGCAG TGAGCTGAAATTGTACTACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGTGAGACTCC ATCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAATCAGACCTGCCTTCCATGAGCTC ATGGTATACTTGAATCTCCATAGGCTAGTTATTCAGGAGGGTATGTAATGTA ACTCAACAATGCACAATTACTTAAATTCGCTCAGGAGAATTACCTCATTTTG CCCAACTTGTTACTGTGAAAAAAAAAAAAGAAAGAAAATTTCAGGACCTTCC AAATTTATTATGCCAAAGGGAAAAGTCAAGCCCTGGAAACCAAGTCATGTAA CACGGCTGTTTTTCTTCTCTGGTGCATGACTGTTGCTTCCTGATCTTTTTGT TGATGTTATACA
2033	CATATAAATTAAATATTTATGTTATATTGAAGGAATACTTTTAGACTTGTTT AAACACAAATCTTTAAAAATTACATATCACTCTTGCATGTACATAAAAAATG AAAATATAGGCAATTAAATTAAGAGAGGTCTACAGTGTCTTTACATCAAGTC TGACTCTACTGAGTCCCTTTTTGACTCAGAGTCATTAATATATTGTTTTTTT CCAGTAATAATGTAGTGATGCAGCCTGTCTTCAAAGACTGCTCTACTATTGA CTCAGATTTTCTCCCAAGCCATTGATACTAGTTTTGAAGCTGATGCTTTTTA AATCTTGCTGTCAGACTTACGGGAAGGTTTTCATACAACAGGGCTCATATTC TTTCCTCAAATTATCCTTACATGTAAATGTTCAGAATGTCGAGATGATACAT AGGCCAGTTATGCCACTGTGAATATCTACCAAGGTCACATGTGTAATGAACA AAGACAGCTATTTCTGCTGCTGGCTGGCAGTGATTTGCAAGATTTTGTTGAC TGTAGGACATATCCTACTTCAATGATGTTAAAATGTGAACAAATATGCACTT CAGACTTTGTAAAATGTAGCACAGCACTTACAGAGCACACTAGGCTTCTGGC ACTCGCATAAAATGAAGACTTGGAGTTTTAGCTGAGTACTAAAGGAGGACCA TCCTCCCACCGAAGGATGAAGAATTTAAGGATATGTAAGTTGAGCTGTACTT ATGTTCATCTGTGATTTTTACAAGTCACTTATTGCTACATGTATCCTTTAAA TATGCGTTGTCCTTCCTCCTAAAATGGTTTCACCATAATAAGTGAAATGTCA GCTTGTCACATTAAATTATAAATTATAAATTACCATCACCTTAGTCCTCTAC ATATCCTTCAACTTCATTATGACACTGTCCTTCAGAGATAAGGAACAGAAAG

【０３４３】

【表１１７】

配列番号	配列
	GCTTTAATGAAAACTTCAGCTAATGTAATAATTAGGGAAGGATGAGCTAATT AAGAAACATACA
2034	CAAAGTCTCCCTAGAGGGCAAAATTGTCCCCATTGAAGACCACTGGGTTAGA TAGAAACTTACATCTCACACATGGAGAGTCCAGGCTGGCATGGTCGCTCTGC TGTGCACTGGGAGCCCAGGTTCCTCCTCGCTTTGCAAATTGTACAAGCTGCC CTCATCACCTGGATGCCTACATCTCACTTAAGAGTCTCAGTTCTAGGAGGGC ACAGACAATGGTGTACTGGTAAACAGACTCTGTTAAAAAAAAAAAAAAAAAA AACCAACACAATCAGGAACATTTTTTAAAAGCCCAGATTTGTAGTGTTTGCA GATTCTTATGTTTTAAATACTCCTGCCATGGCTGATGTGAAACTACCAACAG TTTAACAACTGGCTTACTAAATTTCTGAATATTTACCATTTGTCCCTTGTAA GACAGTATTAGTGGGCTGCAGTATATCAACAGAGAAAGGGAAGGAAAAGATA CAACCTTTTGTTGAAGGACAAAATGACATTTCACTTTTCTTCAGCCCCACTG GCCAAAACTTAGTCCCATGTTCACCTTAGCTGCAGGGGAGGCTGAAATGCAG TGTTTATTCTAAACAACCATGTATCCAGCCACAATACCAGGGGAATTTATCA CCAAGAGAAAGAGAGAGAGAATATCTAGTGCTTGAAAATTATCAGTCTCTGC CACAATTTTATTTAAAAAATAACCAGAAAAATGAGAGTGAATTTTATCTGAG AGGATCTTAGAAATCTCAGCATCGAGAAGGTAATAAATAAAGAGAGATAAGT CACAGACTTCCTGCGACAGTCAAGAATTCCCCATGCAGATGACACCCCAGGA GATGCCGGGTGATTGTTCTTACAATTTCTTCAGTTGAAGGTAAATGTGGCAC TAGCCATTTATTCTTTTAGCTCACGTTGTTTGAAGTGCATCGCCTATGTACT TCACCCTTTGGACTCACTAGAAAACAAAGAGAATTTTGGAATTAGAAGAGGC TTAATAATGTTA
2035	AAATATAAATAAAACATTTCTTTTGGAAATTTTATAATTCAAGCTAATTTAA AATTATGTAAACCTCTATCTTTCATGTAATCTTCTTCCTTCTTTTAAAACAA CATTTTTTTGGTGGTCATCTGTTCGGGAGAAAATGAAATTTTCTGTGGATAA GCAGATATTCTTCACGGAGAAAGCTAACATTCTGCATTCCTCTATTTTAAAA GTGGAAAACATAGTCCTGTTATTTGTATTTAGATGTATTTCTCACCAAAGAG TGCCAGGCTGGATTACAGAAGATCTATATTCTGATCTTGTCCTTTTTCTTTG CAAGCCTGAGGAATTGTCCAGACACAGAATTCCCTAGATCCCCAGATTTCTC ACCTATAATATGAAGGGTTGAAAGAGAGGTCTCAATCGGCTTTGAATTTTCT GTTCTATACTTCTGCACCACCACTGTAGCACTGACAATTGCATGAAAATATT AAGCTCTATTATGTTTTCAGTACTATCCTTAGCTTCTTTAAAAAATTAGTCT AGCTGTGTTTGTAAATAAATGATGTCACTGGAAAAATGGTTTCATACCATTG TTGTCAATAGTTGAATGTGGCTTGCCCTCAGGAACAATGCATTCTTCAATAA

【０３４４】

【表１１８】

配列番号	配列
	TATGGAGGATGGAAGGTGTATAAGGACTCAGATAGCTATTATTCTCATTTGC CCATGATCCTTTCATATCCCCGCCTCTGGTTTAGCATTCTCTTTCTTCCAGG GGAATTTCTCCCCCATTCCATGCATTCTAGTAGAATTTTTTATCACAGTAGA TTGTCCTGCCCTGCCACAGAAATGGGCATTTGACACAGTGGCCACAAAGATT GGTCTAAGCAGTAGGCCTGTGACCCAAGGTAGGCCAATTAGAGTTTTCTGTA GAATTTTTTAGATTCAAAGTGTATGTGTGTGGGGGGGATGACTCTTCTTGAA TTTTATATTAGGATGCATGCCAGAAATTGTTGAAAGGTCTTTAATGTACCAT GTACAGGAAGCT
2036	CACCTATAAGAGGAAATATACTTATGTCTAGGTGGACTCCAATGTGTCTGTT TACTGATACTTATTTATTCATTATTTTCAAGTAAAATGTAGAAGTGAATAAC TTAAGAGAATAACTATTTTTATGAGAGAAAAATACCCACTTTCTTTTTTATT ACTTTGTTCCTCTAGAGGTTCATGAATAATATATTGAACATGTGAGGAGTGA GGCCTGTCTAGCTCTTTTCCTAACATCTTCCACTCCTGTGGCCTCTTATTAG GTACCTTTCTCAGTGAAGATATACAATAAGAATTTTGCATGCTTATTGGGAA TTTATCTGTGAAAAATCACTCAAATGTCATTAAGTCTTTTCTGATAAACCTT AATCATCCAACAACCAGAGTTTTTCTTAAAATAGCTGTTGCTCTAGAAGAAT ACCATAGAATGAAGTTGCTTCCTAGCATGGCAGTCAAGGATCCTGGTTCCAA GTATGAGCTCTGAAGAAGATAGACTATGTTCACCGCTTACTATAGCTGAGTG CCCTTGGACAATTCATTTAAACTGCCCCTAATTTTCTTCCATCATCTGTAAA ATGAATGTAATAATAGCTCTTAATGAGTATTAAATTAGATAATAAGGGCACT GGCATTTATTAAGAACTTAATAAATGTTAGCTTTTGTTATTTCACATTTTTC CTTGATCACTCCTACCAGGAATAAAATTCTGGGAGGGTATAAGTAGGTAGTG AAGTGCTAACTGGTCTGGTTAATTGTTAGAGTTCTGTTAAAAAAAAGTTATT TGAAAAAAGTATTTTGGAGCTAGGATCTAATTTATTAATATATCTGGATTTT CTTTTTCAATTTTGGTGTCCATTATTCACATAAGTAATTGTGGTTTTGCTAT ATTTTTTCCTCCTGAAAAATTATGGCTATACAACTAACTTTATTGTATACTG AATTTTGGAATTTTTTAGGATTTGATGTTCTTACTGGGGAGAGGATTTTGAA TTATTTAACCAC
2037	AACAAGAGGAAAGCATACAAATTTATTTAATACATGTTTTATGTGGCACAGG AGCCCTCATAAAGTAATAAAAAATCCCCAAACACAGTTAGAGCTGAACATTT ATATACTAATCTGGACAAAACATTTATATACTGCGTGGACAAAGAGCAGTAA ATTGTGAAAATGGAACAAGGCAAGGGGGCTTAGACTACAGTAGTTAATCATC AAGAAGTGACAAAAAAAAATAAGGGTTAGTTAATAAGATTTGTTTAAGCAGA TTTCTCCCAGCTTTAGCTCTCTGTCTCTGGTGATCAGAATGCACTCCTTCCT

【０３４５】

【表１１９】

配列番号	配列
	TCAGACTCAGTGAGCACATATTCCACACGGAAGATTTCTTCCCTAGCTTTTA GGAAATCCAGAGAACCCTTTTTGTATCTGTTGTTTTTTTTTTTTTTAAATG TCTTGTCTTTAACTCAAAACAATTTATGTGCCAGGATGACATATCTTTGGAT AATGTGTTCTGAACTCCTTCAGTACATACGTATATAAATTAAAGCAAATATT TTTTATGATAAGCTGGCATAATAGTTTCATAATTTAATCACTGATTTAAAAA TTTAATTAAAATTATTTTTTAATATTTTGTGTAATAATTTTTGAGGAGTATC TTTTGTGCTTAATGAGTGGCAGATGACACCCATGTTCTTAGCAGCATCATTC ACAATAGCTAAAAGATAGGAACAACTGCGTATTGATGGATGAATGGATAAGC AAAATGAGGTATATACATATAAGGGAATATTCTTCATCCTTAAAAAGGAAGG AAATTCTGACATATGCTACAACAAGGTTGAACCTCTAAGGACATTATGCTAA ATGAAATAAACCAGTCTCAAAAAGACAAATACTATGTGATTCCAGATACATA AGGCACCTAGAGACAAACTGATAGAGACAGAAAGTAGAATGAGTGATTACCA GGGGTTGTGAGAGGAAAAAAGAGAGGGTTGTTTGATACAGAGTTTCAGTTTT GCAAGATAAAAG
2038	AACAGGAGAAAAGCGTACAAGTTTATTAAATAGAAGTTTTGCAGCCGGGCGC GCTGGCTCACGCTTGTAATCCTGGCACTTTGGGAGGCCGAGGCGGGCAGATC ACGAGGTCAGGAGATCGAGACCACGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAATAC AACAAATTAGCCAGGCGTGGTAGCGAGGCAGGAGAATGGTGTGAACCCGGGA GGCGGAGCTTGCCTCTGCACTCCAGATCATGCCACTGCACTCCAGCCTGGGT GACAGACCAAGACTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAG AAGTTTTGCATGACATGGGAACCCTCATAAAAAAAGTGAAGTCCCAAAAAAG TGGCAAAATCTAAATGCTTTTATATTATGTTGACGAAAGAGGGGCAATTGTG GAAAAGTAACTAAATTATGAGGGTTAGGCTAACAGAAGATAAAAATTATTTT AACAAGTTCTGTTTGTATAAAATTTTCTCAATTTCAGCTACCCATCCTTGAT GATTAGAATGTTGCATTCCTTCTGGTATACAAGGAACATCTTCCATATGGGG GTTTTATCTTCTGCTTTCAGAAAAAAAAAAATAACTCTGTGTGTGGTAGGAT GAAGGTGTCAGAACATTCTTCTTGCACCTGCTGGTTGCTATCTTTTTAAACT GCATTTGTTTCAAAACAATCCTTATGACAAAGGGGTGTATTTTGGGGTGGCA TATTCTGTCACCCGTCAATATCAAAGTGGTTTTTGAGTTTGTGCTCATCTTC TTTCCTTATTCTGTTCCTTGTAAGGTAAGACTAAATATAATGGAATTTGCCG TCACATGTCTCTTATATGTAGTGAGTTTTAACAGGCATTCCAGGAAATGCCA TATGGTCTTTTAGCTTGGAAATTATTTTAGAAAACGATAAAATCTTTAGTGT GAAGTTATTTCCCAGATATGTATCGCTAAAATTATCATTACAGGTGCTCTAG GTAATATGTTTG

【０３４６】

【表１２０】

配列番号	配列
2039	TTAGTACTTCCATCCCTTTCCTGGCTGCTCTAACTTTACAGGTACTTGTAAG TGGCAATTAAGCACTTTTTCCTAATTCCAGAGTCTTGCCCCACTTCAGAGCA ACATAGAGTGGCCTAGACAGGCTGAGGTACTTTGCCGCTTCAGTCATCATTA ATCTATGGTATTTACTGATGAGAAGTAAAGTGGTAGAAGAAAAAAAAATTTT CTGTTATCCTGGGCACTTGGAAATGAATGTATTCTCACAATCTGTTCTCAAA ACAACTTACTGATTCTGGGGTTCTGGAAGCTCTGATGTGCAGGTGAGCCTTT TAAATTCCTCACTGTTGGAGCTCCTATCTAGGACTCACTGGCTGGATGAAAA CGGTTCTTTTTATTGCTTTCTGAATGTCTGCTAGACAGGCGTAAGCAACACC TTATATCTGCCTTCTGAAAAAGGTAAAAGAACTGGGACCCATCCACCATGCT GGACAGCTCGGCAGTGGCAGTGGCCTCCCCCAGACCCTGTTCCGAGTGCTCC ACCAACAAACTCACCAGCAGTCAGAGTCTAGCCTCTCCCCAAACTTCACCTT CATCACAATTCATTTTAAGCCCTTCCACAACCCAATCAACTCTAGATCTACT TAATGGATAATAATTTGATCTCATGCAAACTGCACTTTCCTCTTCTCAGAAT GATCCTTCTACCCCTTAATTAAACATTTGAGAGTGAAAGAAGAGAAAATTCG GGTTCAAAGATTGGTAAGTCTAAGAAACCTAAGGAAAAGGAGTTAGTAAACA TGTTAATCAAAGAGTGAGCACTTTTCGGAAGCGCAACATTCAGATACCTTTC TTGATTGGATTCCAGAAGACTATTTCTGGGAAGAGGAGATTTGCATTTTTCT AAAGTCTTCTACCCACAGCCTAACCACCCTAGGGCTTTGAAATATTTTTTTT CTGATGTGCAGTCATAATTGAATAAATAAAATGATTCCTGATCATTTCTTCT CTTCAGCTTTAT
2040	TATTCCTGTATTTCTATTGTACTTTTTTGCATTAAGAAACATTTTCCAATGT AACATTTTAATAGATTTTTCACTATTTGTTGAGTTATTTTTGAGTGGTTGTA CTTGAGCTTGCCATCTATGTCTTAACTTCAGATTTGTACTAACTTAATTCCA GGGAGATATAGAAGCATTATTCCTACATAGCTCTATATCAACCCCCTTTTCC TGTGGTATTATTGTTATACAAGGTACACCATATATGTTACAAATACAATTAT TTATAGTTATAATTATTACTTTAAATATATCATTTATGTCTATTAAAGAAGC TGAGAGCAGAGAGGAGATAAAGTATATATTTATAGAATTTGTTATATTAAGC TTCTTATTTGTCATTCTGATTCTCTTTGTTCTGGTGGACTTGAGTAAATATG TGATGTTATTTCATTATGCACACACAGCTTTGCTCCTTGTCATTTTATTTAT GCTGTCTTTCTCAAGTATATTGCATTTAAATACATTATAGGACCAACAATTC AAATATATTTATGTTGTGTTATACAATTGCTTTTTAAAATCAGTTAAGATAG ATGGGATATGCACTGATAGTATGGTTTTTAAAATTATACTTTAAGTTCTGGG TTACATATGCAGAACATGCTGTTTGGTTACATAGGTATACACGTGCCATGGT GGTTTGCTGCACCCATCAACCCACCACCTACATTAGGTATTTCTCCTAATGT

【０３４７】

【表１２１】

配列番号	配列
	TATCTGTCCTCTGGCCTCCAACCCCCCGACATGCCCCAGTGTGTGATGTTCC CCTCCCTGTGTCCATGTGTTCTCATTGTTCAACTCCCACTTATGAGTGAGAA CATGTGGTGTTTGGTTTTCTGATCTTGTGATAGTTTCCTGAGAATGATGGTT TCCAGCTTCATCCATGTCCCTGAAAAAGATATGAACTCATCCTAGACAATAA TTCAAACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACGCAAATG GCACTAGTATCT
2041	TCCAGAAAACATAACAATTCAGAACATATATTTAATCCCTCCTCAATCCAGA TCCTTGTTGAAACAATGAAAGAGTACAATATACTGCCATGAAAAGTACTGAG AAAAGTCTACAGATAGTGACATGGAAGAAAAGAAAAAATATTAAATAGATCA AACTAGTTATATAATTTGTATCTCATTTCTGTAAAATAAATTTAACATTTAT AAGTGTATTAGTTTGTTCTCACATTGCTATAATAAAATACCTGAGACTGGGT AATTAAAAAAAAAAAACAGATTTAATTGGCACACAGTTCTATAGGCTGTACAG AGAAAACAGTGGCTTCTGCTTCTGGGGAGGTTTCAGGAAACTTCCAATCATG ATGGAAGCCGAAGGGGAAGCAGACACATCTTACGTGGCCAGAGCAGGAGCAC AAGTGTGAAGGGAAGTGTCTGTTCATATTCTTCACTCACTTTTTAATGGGGT TGTTTGTTTTTTTCTTAGAAATTTAAGTTCCTTGTAGATTCTGGATATTAGG CCTTTGTCAGATGGATAGATTGCAAAAATGTTCTCCCATTCTGCAGGTTGCC TGTTCACTTTGATGATAGTTTCTTTTGCTGAGCAGAAGCTCTTTAGTTTAAT TTTGCAGGGACATGGATGAAGCTGGAAACCATTATCTTCAGTAGACTAACTG TTAACAGGAACAGAAAACCAAAAACAAACAAAAGCATGAAGAGGGAAGTGTC ACCCACATGAGAACTCACTATTGTGATGACAACACCAAGGGGAATGGTGTTA AACCATGAGAACCGGCCCCCATGATCCAATCACTTCCCACCAGGCCCCACCT CCAATACTGGATATTACAATTCAACAAGAGATTTGGGCAGGAATACAGATCC AAACCATATCAGTAAATATAATAAATATATATTAATAAATATGTAAATATAT GTATGCAAGTTAACAAATGAACCAGTTGGTATGTAAGTATGTATATAAAGGA CCATAGCAGTTA
2042	CTGAATACTAGAGGAGCAAGTACAACAAATGGAAAATGGGATCAAGTATGAG TGAGAGTTGCTAAGATGCCTGGTAGGGATGCAAAGGGGTAGAGAGCCTGGGG AGAGAGGGTGAGGGAGGGAAGCACTGGTTTCTCAAGCAAAAGCTAAAATTTT TCTATTAAGATTTAACCTGATGCTACACTTTGGTGGTGCAGCAAGGGTCTCA AATGGTATAAAACTCAGGTGATCATGCTTTATGTCTGTCTCTAGAAAAATGC TCCAAAAATGATAAGTAGTGATAATCCGCAGTCTCGTTGCATAAAATCAGCC CCAGGTGAATGACTAAGCTCCATTTCCCTACCCCACCCTTATTACAATAACC TCGACACCAACTCTAGTCCGTGGGAAGATAAACTAATCGGAGTCGCCCCTCA

【０３４８】

【表１２２】

配列番号	配列
	AATCTTACAGCTGCTCACTCCCCTGCAGGGCAACGCCCAGGGACCAAGTTAG CCCCTTAAGCCTAGGCAAAAGAATCCCGCCCATAATCGAGAAGCGACTCGAC ATGGAGGCGATGACGAGATCACGCGAGGAGGAAAGGAGGGAGGGCTTCTTCC AGGCCCAGGGCGGTCCTTACAAGACGGGAGGCAGCAGAGAACTCCCATAAAG GTATTGCGGCACTCCCCTCCCCCTGCCCAGAAGGGTGCGGCCTTCTCTCCAC CTCCTCCACCGCAGCTCCCTCAGGATTGCAGCTCGCGCCGGTTTTTGGAGAA CAAGCGCCTCCCACCCACAAACCAGCCGGACCGACCCCCGCTCCTCCCCCAC CCCCACGAGTGCCTGTAGCAGGTCGGGCTTGTCTCGCCCTTCAGGCGGTGGG AACCCGGGGCGGAGCCGCGGCCGCCGCCATCCAGAAGTCTCGGCCGGCAGCC CGCCCCCGCCTCCAGCGCGCGCTTCCTGCCACGTTGCGCAGGGGCGCGGGGC CAGACACTGCGGCGCTCGGCCTCGGGGAGGACCGTACCAACGCCCGCCTCCC CGCCACCCCCGCGCCCCGCGCAGTGGTTTCGCTCATGTGAGACTCGAGCCAG TAGCA
2043	GCCCTGCCAGGACGGGGCTGGCTACTGGCCTTATCTCACAGGTAAAACTGAC GCACGGAGGAACAATATAAATTGGGGACTAGAAAGGTGAAGAGCCAAAGTTA GAACTCAGGACCAACTTATTCTGATTTTGTTTTTCCAAACTGCTTCTCCTCT TGGGAAGTGTAAGGAAGCTGCAGCACCAGGATCAGTGAAACGCACCAGACGG CCGCGTCAGAGCAGCTCAGGTTCTGGGAGAGGGTAGCGCAGGGTGGCCACTG AGAACCGGGCAGGTCACGCATCCCCCCCTTCCCTCCCACCCCCTGCCAAGCT CTCCCTCCCAGGATCCTCTCTGGCTCCATCGTAAGCAAACCTTAGAGGTTCT GGCAAGGAGAGAGATGGCTCCAGGAAATGGGGGTGTGTCACCAGATAAGGAA TCTGCCTAACAGGAGGTGGGGGTTAGACCCAATATCAGGAGACTAGGAAGGA GGAGGCCTAAGGATGGGGCTTTTCTGTCACCAATCCTGTCCCTAGTGGCCCC ACTGTGGGGTGGAGGGGACAGATAAAAGTACCCAGAACCAGAGCCACATTAA CCGGCCCTGGGAATATAAGGTGGTCCCAGCTCGGGGACACAGGATCCCTGGA GGCAGCAAACATGCTGTCCTGAAGTGGACATAGGGGCCCGGGTTGGAGGAAG AAGACTAGCTGAGCTCTCGGACCCCTGGAAGATGCCATGACAGGGGGCTGGA AGAGCTAGCACAGACTAGAGAGGTAAGGGGGGTAGGGGAGCTGCCCAAATGA AAGGAGTGAGAGGTGACCCGAATCCACAGGAGAACGGGGTGTCCAGGCAAAG AAAGCAAGAGGATGGAGAGGTGGCTAAAGCCAGGGAGACGGGGTACTTTGGG GTTGTCCAGAAAAACGGTGATGATGCAGGCCTACAAGAAGGGGAGGCGGGAC GCAAGGGAGACATCCGTCGGAGAAGGCCATCCTAAGAAACGAGAGATGGCAC AGGCCCCAGAAGGAGAAGGAAAAGGGAACCCA

【０３４９】

ある場合に、標的ヌクレオチド配列において又はその近くで標的ポリヌクレオチドにおいて挿入された、外因性ＤＮＡ、例えば、導入遺伝子の発現は、分化中のクロマチン構造再編成の再配列と相関するか又は相関しないことがある標的ポリヌクレオチドの１つ以上の構成要素が分化中に活性化される一方、他の構成要素がサイレンシングされる際、細胞型及び分化段階に依存し得る。これを克服するために、特定の実施形態において、上記の例示的な特徴に加えて、標的ヌクレオチド配列を含む好適な標的ポリヌクレオチドは、分化及びクローン性増殖を通して、挿入された外因性ＤＮＡ、例えば、導入遺伝子の好適な発現を実証する。

【０３５０】
ＩＶ．医薬組成物
ガイド核酸、操作された非天然システム、又は真核細胞、例えば、本明細書に開示されるガイド核酸、操作された非天然システム、又は真核細胞を含む組成物（例えば、医薬組成物）が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、組成物は、ガイド核酸、例えば、本明細書に開示されるガイド核酸、及びＣａｓタンパク質（例えば、Ｃａｓヌクレアーゼ）を含むＲＮＰを含む。特定の実施形態において、組成物は、シングルガイド核酸、例えば、本明細書に開示されるシングルガイド核酸を含む。特定の実施形態において、組成物は、シングルガイド核酸、及びＣａｓタンパク質（例えば、Ｃａｓヌクレアーゼ）を含むＲＮＰを含む。特定の実施形態において、組成物は、ターゲッター核酸、モジュレーター核酸、及びＣａｓタンパク質（例えば、Ｃａｓヌクレアーゼ）を含むＲＮＰを含む。特定の実施形態において、組成物は、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸の複合体、例えば、本明細書に開示されるターゲッター核酸及びモジュレーター核酸の複合体を含む。特定の実施形態において、組成物は、ターゲッター核酸、モジュレーター核酸、及びＣａｓタンパク質（例えば、Ｃａｓヌクレアーゼ）を含むＲＮＰを含む。
【０３５１】
特定の実施形態において、組成物を生成する方法であって、シングルガイド核酸、例えば、本明細書に開示されるシングルガイド核酸を、Ｃａｓタンパク質とともにインキュベートし、それによって、シングルガイド核酸及びＣａｓタンパク質（例えば、ＲＮＰ）の複合体を生成することを含む方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、本方法は、複合体（例えば、ＲＮＰ）を精製することをさらに含む。
【０３５２】
特定の実施形態において、組成物を生成する方法であって、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸、例えば、本明細書に開示されるターゲッター核酸及びモジュレーター核酸を、好適な条件下でインキュベートし、それによって、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸の複合体を含む組成物（例えば、医薬組成物）を生成することを含む方法が、本明細書において提供される。特定の実施形態において、本方法は、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸を、Ｃａｓタンパク質（例えば、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸が活性化することが可能であるＣａｓヌクレアーゼ又は関連するＣａｓタンパク質）とともにインキュベートし、それによって、ターゲッター核酸、モジュレーター核酸、及びＣａｓタンパク質（例えば、ＲＮＰ）の複合体を生成することを含む方法をさらに含む。特定の実施形態において、本方法は、複合体（例えば、ＲＮＰ）を精製することをさらに含む。
【０３５３】
治療的使用では、ガイド核酸、操作された非天然システム、ＣＲＩＳＰＲ発現システム、又はこのようなシステムを含むか若しくは本明細書に開示されるこのようなシステムによって修飾された細胞が、薬学的に許容される担体と組み合わされ得る。本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」という用語は、妥当な医学的判断の範囲内で、妥当な便益／リスク比に見合い、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症なしでヒト及び動物の組織と接触して使用するのに好適な化合物、材料、組成物、及び／又は剤形を指し得る。
【０３５４】
本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」という用語は、妥当な便益／リスク比に見合い、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症なしでヒト及び動物の組織と接触して使用するのに好適な緩衝液、担体、及び賦形剤を含む。薬学的に許容される担体は、標準的な医薬担体のいずれか、例えば、リン酸緩衝生理食塩水、水、エマルション（例えば、水中油型又は油中水型エマルションなど）、及び様々なタイプの湿潤剤を含む。組成物は、安定剤及び保存料も含み得る。担体、安定剤及びアジュバントの例については、例えば、Ｍａｒｔｉｎ，Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１５ｔｈ Ｅｄ．，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌ．Ｃ

ｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，ＰＡ（１９７５）を参照されたい。薬学的に許容される担体としては、医薬品の投与と適合する、緩衝液、溶媒、分散媒、コーティング、等張剤及び吸収遅延剤などが挙げられる。薬理活性物質のためのこのような媒体及び薬剤の使用は、当該技術分野において公知である。

【０３５５】

特定の実施形態において、本明細書に開示される医薬組成物は、塩、例えば、ＮａＣｌ、ＭｇＣｌ２、ＫＣｌ、ＭｇＳＯ４など；緩衝剤、例えば、Ｔｒｉｓ緩衝液、Ｎ－（２－ヒドロキシエチル）ピペラジン－Ｎ’－（２－エタンスルホン酸）（ＨＥＰＥＳ）、２－（Ｎ－モルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）、ＭＥＳナトリウム塩、３－（Ｎ－モルホリノ）プロパンスルホン酸（ＭＯＰＳ）、Ｎ－トリス［ヒドロキシメチル］メチル－３－アミノプロパンスルホン酸（ＴＡＰＳ）など；可溶化剤；洗浄剤、例えば、非イオン性洗浄剤、例えば、Ｔｗｅｅｎ－２０など；ヌクレアーゼ阻害剤などを含む。例えば、特定の実施形態において、本発明の組成物は、本発明のＤＮＡ標的化ＲＮＡ、例えば、ｇＲＮＡ、及び核酸を安定させるための緩衝液を含む。

【０３５６】

特定の実施形態において、医薬組成物は、例えば、組成物のｐＨ、オスモル濃度、粘度、透明度、色、等張性、匂い、滅菌性、安定性、溶解若しくは放出の速度、吸着又は浸透を調節、維持又は保存するための製剤化材料を含有し得る。このような実施形態において、好適な製剤化材料としては、限定はされないが、アミノ酸（グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン又はリジンなど）；抗菌剤；酸化防止剤（アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウム又は亜硫酸水素ナトリウムなど）；緩衝液（ボレート、ビカーボネート、Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、シトレート、ホスフェート又は他の有機酸など）；増量剤（マンニトール又はグリシンなど）；キレート剤（エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）など）；錯化剤（カフェイン、ポリビニルピロリドン、β－シクロデキストリン又はヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリンなど）；充填剤；単糖類；二糖類；及び他の糖質（グルコース、マンノース又はデキストリンなど）；タンパク質（血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリンなど）；着色剤、着香剤及び希釈剤；乳化剤；親水性ポリマー（ポリビニルピロリドンなど）；低分子量ポリペプチド；塩形成対イオン（ナトリウムなど）；保存料（塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサール、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸又は過酸化水素など）；溶媒（グリセリン、プロピレングリコール又はポリエチレングリコールなど）；糖アルコール（マンニトール又はソルビトールなど）；懸濁化剤；界面活性剤又は湿潤剤（プルロニック、ＰＥＧ、ソルビタンエステル、ポリソルベート、例えば、ポリソルベート２０、ポリソルベート、ｔｒｉｔｏｎ、トロメタミン、レシチン、コレステロール、チロキサパール（ｔｙｌｏｘａｐａｌ）など）；安定性向上剤（スクロース又はソルビトールなど）；張度向上剤（アルカリ金属ハロゲン化物、好ましくは、ナトリウム又は塩化カリウム、マンニトールソルビトールなど）；送達ビヒクル；希釈剤；賦形剤及び／又は医薬品アジュバント（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１８ｔｈ ｅｄ．（Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ，１９９０を参照）が挙げられる。

【０３５７】

特定の実施形態において、医薬組成物は、ナノ粒子、例えば、ポリマーナノ粒子、リポソーム、又はミセルを含有し得る（Ａｎｓｅｌｍｏ ｅｔ ａｌ．（２０１６）Ｂｉｏｅｎｇ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．１：１０－２９を参照）。特定の実施形態において、医薬組成物は、無機ナノ粒子を含む。例示的な無機ナノ粒子としては、例えば、磁気ナノ粒子（例えば、Ｆｅ３ＭｎＯ２）又はシリカが挙げられる。ナノ粒子の外側表面が、ペイロードの結合（例えば、コンジュゲーション又は封入）を可能にする正に荷電したポリマー（例えば、ポリエチレンイミン、ポリリジン、ポリセリン）とコンジュゲートされ得る。特定の実施形態において、医薬組成物は、有機ナノ粒子（例えば、ナノ粒子内部のペイロードの封入）を含む。例示的な有機ナノ粒子としては、例えば、ポリエチレングリコール（

ＰＥＧ）で被覆され、中性ヘルパー脂質と一緒にカチオン性脂質を含有するＳＮＡＬＰリポソーム並びに脂質コーティングで被覆されたプロタミン及び核酸複合体が挙げられる。特定の実施形態において、医薬組成物は、リポソーム、例えば、国際（ＰＣＴ）出願公報番号国際公開第２０１５／１４８８６３号パンフレットに開示されるリポソームを含む。

【０３５８】

特定の実施形態において、医薬組成物は、標的細胞の結合又はナノ粒子及びリポソームの更新を高めるための標的部分を含む。例示的な標的化部分としては、細胞特異的抗原、モノクローナル抗体、一本鎖抗体、アプタマー、ポリマー、糖類、及び細胞膜透過ペプチドが挙げられる。特定の実施形態において、医薬組成物は、融合性又はエンドソーム不安定化ペプチド又はポリマーを含む。

【０３５９】

特定の実施形態において、医薬組成物は、持続送達又は制御送達製剤を含有し得る。持続送達又は制御送達手段、例えば、リポソーム担体、生体内分解性微粒子又は多孔性ビーズ及びデポー注射剤を製剤化するための技術も、当業者に公知である。徐放性製剤は、例えば、成形品、例えば、フィルム、若しくはマイクロカプセルの形態の、多孔性ポリマー微粒子又は半透過性ポリマーマトリックスを含み得る。徐放性マトリックスは、ポリエステル、ヒドロゲル、ポリラクチド、Ｌ－グルタミン酸及びγエチル－Ｌ－グルタメートのコポリマー、ポリ（２－ヒドロキシエチル－インエタクリレート）、エチレン酢酸ビニル、又はポリ－Ｄ（－）－３－ヒドロキシ酪酸を含み得る。徐放性組成物は、当該技術分野において公知のいくつかの方法のいずれかによって調製され得るリポソームも含み得る。

【０３６０】

本発明の医薬組成物は、当該技術分野において公知の様々な方法によって投与され得る。投与の経路及び／又は方法は、所望の結果に応じて様々である。投与は、静脈内、筋肉内、腹腔内、若しくは皮下であり得るか、又は標的部位の近位に施され得る。薬学的に許容される担体は、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄又は表皮投与（例えば、注射又は注入による）に好適であるべきである。投与経路に応じて、活性化合物（例えば、本明細書に開示されるガイド核酸、操作された非天然システム、又はＣＲＩＳＰＲ発現システム）は、酸の作用及び化合物を不活性化し得る他の自然条件から化合物を保護するための材料で被覆され得る。

【０３６１】

非経口投与に好適な製剤成分としては、滅菌希釈剤、例えば、注射用水、生理食塩溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶媒；抗菌剤、例えば、ベンジルアルコール又はメチルパラベン；酸化防止剤、例えば、アスコルビン酸又は重亜硫酸ナトリウム；キレート剤、例えば、ＥＤＴＡ；緩衝液、例えば、アセテート、シトレート又はホスフェート；及び張度の調整のための薬剤、例えば、塩化ナトリウム又はデキストロースが挙げられる。

【０３６２】

静脈内投与では、好適な担体としては、生理食塩水、静菌水、Ｃｒｅｍｏｐｈｏｒ　ＥＬＴＭ（ＢＡＳＦ，Ｐａｒｓｉｐｐａｎｙ，ＮＪ）又はリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）が挙げられる。担体は、製造及び貯蔵の条件下で安定であるべきであり、微生物に対して保存されるべきである。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコール）、並びにそれらの好適な混合物を含有する溶媒又は分散媒であり得る。

【０３６３】

医薬製剤は、好ましくは滅菌されている。滅菌は、任意の好適な方法、例えば、滅菌ろ過膜を通したろ過によって行われ得る。組成物が凍結乾燥される場合、ろ過滅菌は凍結乾燥及び再構成の前又は後に行われ得る。特定の実施形態において、医薬組成物は、凍結乾燥され、次に、投与時に緩衝生理食塩水で再構成される。

【０３６４】

本発明の医薬組成物は、当該技術分野において周知であり、日常的に実施される方法に

従って調製され得る。例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，２０ｔｈ ｅｄ．，２０００；及びＳｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ，ｅｄ．，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９７８を参照されたい。医薬組成物は、好ましくは、ＧＭＰ条件下で製造される。典型的に、治療的に有効な用量又は有効な用量の本明細書に開示されるガイド核酸、操作された非天然システム、又はＣＲＩＳＰＲ発現システムが、本発明の医薬組成物に用いられる。本明細書に開示される組成物は、当業者に公知の従来の方法によって、薬学的に許容される剤形に製剤化される。投与量レジメンは、最適な所望の応答（例えば、治療応答）をもたらすように調整される。例えば、単回ボーラスが、投与されてもよく、数回の分割用量が、経時的に投与されてもよく、又は用量が、治療状況の緊急性に示されるように比例的に減少若しくは増加され得る。非経口組成物を、投与の容易さ及び投与量の均一性のために投与単位形態に製剤化することが特に有利である。本明細書で使用される場合、投与単位形態は、治療される対象のための単位投与量として適した物理的に別個の単位を指し；各単位は、必要な医薬担体とともに、所望の治療効果をもたらすように計算された所定の量の活性化合物を含有する。

【０３６５】

本発明の医薬組成物中の有効成分の実際の投与量レベルは、具体的な患者、組成物、及び投与方法で所望の治療応答を得るのに有効であり、患者に対して毒性でない有効成分の量を得るように変化され得る。選択された投与量レベルは、用いられる本明細書に開示される特定の組成物、又はそのエステル、塩若しくはアミドの活性、投与経路、投与時間、用いられる具体的な化合物の排出速度、治療期間、用いられる具体的な組成物と組み合わせて使用される他の薬物、化合物及び／又は材料、治療される患者の年齢、性別、体重、状態、全体的な健康及び既往歴などの要因を含む様々な薬物動態学的要因に依存する。

【０３６６】

Ｖ．治療的使用

例えば、本明細書に開示される、ガイド核酸、操作された非天然システム、及びＣＲＩＳＰＲ発現システムは、細胞又は生物内のゲノムＤＮＡを標的化、編集、及び／又は修飾するのに有用である。これらのガイド核酸及びシステム、並びにシステムのうちの１つを含む細胞又はシステムのうちの１つによってゲノムが修飾された細胞が、遺伝情報又はエピジェネティック情報の修飾が望ましい疾患又は障害を治療するのに使用され得る。したがって、疾患又は障害を治療する方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に開示されるガイド核酸、非天然システム、ＣＲＩＳＰＲ発現システム、又は細胞を投与することを含む方法が、本明細書において提供される。

【０３６７】

「対象」という用語は、ヒト及び非ヒト動物を含む。非ヒト動物は、全ての脊椎動物、例えば、哺乳動物及び非哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類、及びは虫類を含む。注記される場合を除き、「患者」又は「対象」という用語は、本明細書において同義的に使用される。

【０３６８】

「治療」、「治療すること」、「治療する」、「治療される」などの用語は、本明細書で使用される場合、所望の薬理学的及び／又は生理学的効果を得ることを指し得る。効果は、疾患及び／又は疾患に起因する有害効果の部分的若しくは完全な治癒又は疾患の進行の遅延という点で治療性であり得る。本明細書で使用される場合、「治療」は、哺乳動物、例えば、ヒトの疾患の任意の治療を包含し、（ａ）疾患を抑制すること、すなわち、その進行を停止させること；及び（ｂ）疾患を軽減すること、すなわち、疾患の退行を引き起こすことを含む。疾患又は障害が、遺伝学的方法によって特定され、何らかの医学的症状の発現前に治療され得ることが理解される。

【０３６９】

毒性及びオフターゲット作用の最小化のために、送達されるＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムの濃度を制御することが重要であり得る。最適な濃度は、様々な濃度を、細胞モデル、組織モデル、又は非ヒト真核生物動物モデルにおいて試験し、ディープシークエンシングを用いて、潜在的オフターゲットゲノム遺伝子座における修飾の程度を分析することによって決定され得る。オフターゲット修飾のレベルを最小限に抑えながら最も高いオンターゲット修飾レベルが得られる濃度が、一般に、エクスビボ又はインビボ送達のために選択される。

【０３７０】

本明細書に開示されるガイド核酸、操作された非天然システム、及びＣＲＩＳＰＲ発現システムが、細胞内のシステムによって改善され得る任意の好適な疾患又は障害を治療するのに使用され得ることが理解される。

【０３７１】

治療目的では、本明細書に開示される特定の方法は、増殖性細胞、例えば、幹細胞（例えば、造血幹細胞）、前駆細胞（例えば、造血前駆細胞又はリンパ前駆細胞）、又は記憶細胞（例えば、記憶Ｔ細胞）を編集又は修飾するのに特に好適である。このような細胞が、対象に送達され、インビボで増殖することを考慮すると、オフターゲット事象に対する許容性は低い。しかしながら、送達前に、オンターゲット及びオフターゲット事象を評価し、それによって、所望の編集又は修飾を有し、所望されない編集又は修飾を有さない１つ以上のコロニーを選択することが可能である。したがって、より低い編集又は修飾効率が、このような細胞について許容され得る。本発明の操作された非天然システムは、例えば、デュアルガイド核酸のハイブリダイゼーションを調整することによって、核酸切断の効率を高めるか又は低下させるという利点を有する。結果として、それは、遺伝子組換えされた増殖性細胞を生成するときのオフターゲット事象を最小限に抑えるのに使用され得る。

【０３７２】

特定の実施形態において、本明細書に開示されるガイド核酸、操作された非天然システム、及び／又はＣＲＩＳＰＲ発現システムは、免疫細胞を操作するのに使用され得る。免疫細胞としては、限定はされないが、リンパ球（例えば、Ｂリンパ球又はＢ細胞、Ｔリンパ球又はＴ細胞、及びナチュラルキラー細胞）、骨髄細胞（例えば、単球、マクロファージ、好酸球、肥満細胞、好塩基球、及び顆粒球）、並びにこれらの細胞型に分化することが可能な幹細胞及び前駆細胞（例えば、造血幹細胞、造血前駆細胞、及びリンパ前駆細胞）が挙げられる。細胞は、治療される対象に由来する自己細胞、或いはドナーに由来する同種異系細胞を含み得る。

【０３７３】

特定の実施形態において、免疫細胞は、Ｔ細胞であり、これは、例えば、培養Ｔ細胞、初代Ｔ細胞、培養Ｔ細胞株由来のＴ細胞（例えば、ジャーカット、ＳｕｐＴｉ）、又は哺乳動物、例えば、治療される対象から得られるＴ細胞であり得る。哺乳動物から得られる場合、Ｔ細胞は、限定はされないが、血液、骨髄、リンパ液節、胸腺、又は他の組織若しくは体液を含む多くの供給源から得ることができる。Ｔ細胞はまた、濃縮又は精製され得る。Ｔ細胞は、任意の型のＴ細胞であり得、限定はされないが、ＣＤ４$^{+}$／ＣＤ８$^{+}$ダブルポジティブＴ細胞、ＣＤ４$^{+}$ヘルパーＴ細胞（例えば、Ｔｈ１及びＴｈ２細胞）、ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞（例えば、細胞傷害性Ｔ細胞）、腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）、メモリーＴ細胞（例えば、セントラルメモリーＴ細胞及びエフェクターメモリーＴ細胞）、制御性Ｔ細胞、ナイーブＴ細胞などを含む任意の発達段階のものであり得る。

【０３７４】

特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、外因性遺伝子を発現するように操作される。例えば、特定の実施形態において、本明細書に開示される操作されたＣＲＩＳＰＲシステムは、遺伝子座におけるＤＮＡ切断を触媒し、ＨＤＲによる遺伝子座における外因性遺伝子の部位特異的組み込みを可能にし得る。

【０３７５】

特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するように操作され、すなわち、Ｔ細胞は、ＣＡＲをコードする外因性ヌクレオチド配列を含む。本明細書で使用される場合、「キメラ抗原受容体」又は「ＣＡＲ」という用語は、抗原特異的結合部分と、免疫受容体に由来する１つ以上のシグナル伝達鎖を含む任意の人工受容体を含む。ＣＡＲは、ヒンジ及び膜貫通領域を介して、Ｔ細胞シグナル伝達分子の細胞質ドメイン、例えば、Ｔ細胞トリガードメイン（例えば、ＣＤ３ζ由来）とタンデム状態のＴ細胞共刺激ドメイン（例えば、ＣＤ２８、ＣＤ１３７、ＯＸ４０、ＩＣＯＳ、又はＣＤ２７由来）に連結された抗原に特異的な抗体の一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）を含み得る。キメラ抗原受容体を発現するＴ細胞は、ＣＡＲ　Ｔ細胞と呼ばれる。例示的なＣＡＲ　Ｔ細胞としては、ＣＤ１９標的化ＣＴＬ０１９細胞（Ｇｒｕｐｐ　ｅｔ　ａｌ．（２０１５）ＢＬＯＯＤ，１２６：４９８３を参照）、１９－２８ｚ細胞（Ｐａｒｋｅｔ　ａｌ．（２０１５）Ｊ．ＣＬＩＮ．ＯＮＣＯＬ．，３３：７０１０を参照）、及びＫＴＥ－Ｃ１９細胞（Ｌｏｃｋｅ　ｅｔ　ａｌ．（２０１５）ＢＬＯＯＤ，１２６：３９９１を参照）が挙げられる。さらなる例示的なＣＡＲ　Ｔ細胞は、米国特許第７，４４６，１９０号明細書、同第８，３９９，６４５号明細書、同第８，９０６，６８２号明細書、同第９，１８１，５２７号明細書、同第９，２７２，００２号明細書、同第９，２６６，９６０号明細書、同第１０，２５３，０８６号明細書、同第１０６４０５６９号明細書、及び同第１０，８０８，０３５号明細書、並びに国際（ＰＣＴ）公報番号国際公開第２０１３／１４２０３４号パンフレット、国際公開第２０１５／１２０１８０号パンフレット、国際公開第２０１５／１８８１４１号パンフレット、国際公開第２０１６／１２０２２０号パンフレット、及び国際公開第２０１７／０４０９４５号パンフレットに記載されている。ＣＲＩＳＰＲシステムを用いてＣＡＲを発現する例示的な手法は、Ｈａｌｅ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＭＯＬ　ＴＨＥＲ　ＭＥＴＨＯＤＳ　ＣＬＩＮ　ＤＥＶ．，４：１９２，ＭａｃＬｅｏｄ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＭＯＬ　ＴＨＥＲ，２５：９４９、及びＥｙｑｕｅｍ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＮＡＴＵＲＥ，５４３：１１３に記載されている。

【０３７６】

特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、内因性Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）を介して、抗原、例えば、癌抗原に結合する。特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、外因性ＴＣＲ、例えば、外因性天然ＴＣＲ又は外因性操作されたＴＣＲを発現するように操作される。Ｔ細胞受容体は、α鎖及びβ鎖と呼ばれる２つの鎖を含み、これは、Ｔ細胞の表面で組み合わされて、ＭＨＣ拘束性抗原を認識することができるヘテロ二量体型受容体を形成する。α鎖及びβ鎖のそれぞれは、定常領域及び可変領域を含む。α鎖及びβ鎖の各可変領域は、Ｔ細胞受容体に抗原結合活性及び結合特異性を付与するＣＤＲ$_1$、ＣＤＲ$_2$、及びＣＤＲ$_3$として公知の相補性決定領域（ＣＤＲ）と呼ばれる３つのループを画定する。

【０３７７】

特定の実施形態において、ＣＡＲ又はＴＣＲが、Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）、メソテリン、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）、前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）、炭酸脱水酵素ＩＸ（ＣＡＩＸ）、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、ＣＤ５、ＣＤ７、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ３３、ＣＤ３４、ＣＤ３８、ＣＤ４１、ＣＤ４４、ＣＤ４９ｆ、ＣＤ５６、ＣＤ７０、ＣＤ７４、ＣＤ１２３、ＣＤ１３３、ＣＤ１３８、上皮糖タンパク質２（ＥＧＰ２）、上皮糖タンパク質－４０（ＥＧＰ－４０）、上皮細胞接着分子（ＥｐＣＡＭ）、受容体型チロシン－プロテインキナーゼ（ＦＬＴ３）、葉酸結合タンパク質（ＦＢＰ）、胎児型アセチルコリン受容体（ＡＣｈＲ）、葉酸受容体－ａ及びβ（ＦＲａ及びβ）、ガングリオシドＧ２（ＧＤ２）、ガングリオシドＧ３（ＧＤ３）、上皮成長因子受容体２（ＨＥＲ－２／ＥＲＢ２）、上皮成長因子受容体ｖＩＩＩ（ＥＧＦＲｖＩＩＩ）、ＥＲＢ３、ＥＲＢ４、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素（ｈＴＥＲＴ）、インターロイキン－１３受容体サブユニットアルファ－２（ＩＬ－１３Ｒａ２）、Ｋ－軽鎖、キナーゼ挿入ドメイン受容体（ＫＤＲ）、ルイスＡ（ＣＡ１９．９）、ルイスＹ（ＬｅＹ）

、ＬＩ細胞接着分子（ＬＩＣＡＭ）、黒色腫関連抗原１（黒色腫抗原ファミリーＡｌ、ＭＡＧＥ－Ａ１）、ムチン１６（ＭＵＣ－１６）、ムチン１（ＭＵＣ－１；例えば、切断型ＭＵＣ－１）、ＫＧ２Ｄリガンド、癌－精巣抗原ＮＹ－ＥＳＯ－１、腫瘍胎児抗原（ｈ５Ｔ４）、腫瘍関連糖タンパク質７２（ＴＡＧ－７２）、血管内皮成長因子Ｒ２（ＶＥＧＦ－Ｒ２）、ウィルムス腫瘍タンパク質（ＷＴ－１）、１型チロシン－プロテインキナーゼ膜貫通受容体（ＲＯＲ１）、Ｂ７－Ｈ３（ＣＤ２７６）、Ｂ７－Ｈ６（Ｎｋｐ３０）、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン－４（ＣＳＰＧ４）、ＤＮＡＸアクセサリー分子（ＤＮＡＭ－１）、エフリンＡ型受容体２（ＥｐＨＡ２）、線維芽細胞関連タンパク質（ＦＡＰ）、Ｇｐｌ００／ＨＬＡ－Ａ２、グリピカン３（ＧＰＣ３）、ＨＡ－ＩＨ、ＨＥＲＫ－Ｖ、ＩＬ－１　ＩＲａ、潜伏期膜タンパク質１（ＬＭＰ１）、神経細胞接着分子（Ｎ－ＣＡＭ／ＣＤ５６）、及びトレイル受容体（ＴＲＡＩＬ－Ｒ）から選択される癌抗原に結合する。

【０３７８】

ＣＡＲコード配列又は外因性ＴＣＲコード配列の挿入に好適な遺伝子座としては、限定はされないが、セーフハーバー遺伝子座（例えば、ＡＡＶＳ１遺伝子座）ＴＣＲサブユニット遺伝子座（例えば、ＴＣＲα定常領域（ＴＲＡＣ）遺伝子座、ＴＣＲβ定常領域１（ＴＲＢＣ１）遺伝子座、及びＴＣＲβ定常領域２（ＴＲＢＣ２）遺伝子座）が挙げられる。ＴＲＡＣ遺伝子座における挿入が、トニックＣＡＲシグナル伝達を低減し、Ｔ細胞能力を向上させることが理解される（Ｅｙｑｕｅｍ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＮＡＴＵＲＥ，５４３：１１３を参照）。さらに、内因性ＴＲＡＣ、ＴＲＢＣ１、又はＴＲＢＣ２遺伝子の不活性化は、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）応答を低減し、それによって、ＣＡＲ　Ｔ細胞の調製のための出発材料として同種異系Ｔ細胞の使用を可能にし得る。したがって、特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、内因性ＴＣＲ又はＴＣＲサブユニット、例えば、ＴＲＡＣ、ＴＲＢＣ１、及び／又はＴＲＢＣ２の低減された発現を有するように操作される。細胞は、内因性ＴＣＲ又はＴＣＲサブユニットの部分的に低減された発現を有するか又はその発現を有さないように操作され得る。例えば、特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、対応する非修飾又は親細胞と比べて、８０％未満（例えば、７０％未満、６０％未満、５０％未満、４０％未満、３０％未満、２０％未満、１０％未満、又は５％未満）の内因性ＴＣＲ又はＴＣＲサブユニットの発現を有するように操作される。特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、内因性ＴＣＲ又はＴＣＲサブユニット検出可能な発現を有さないように操作される。ＣＲＩＳＰＲシステムを用いてＴＣＲの発現を低減するための例示的な手法は、米国特許第９，１８１，５２７号明細書、Ｌｉｕ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＣＥＬＬ　ＲＥＳ，２７：１５４，Ｒｅｎ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＣＬＩＮ　ＣＡＮＣＥＲ　ＲＥＳ，２３：２２５５、Ｃｏｏｐｅｒ　ｅｔ　ａｌ．（２０１８）ＬＥＵＫＥＭＩＡ，３２：１９７０、及びＲｅｎ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＯＮＣＯＴＡＲＧＥＴ，８：１７００２に記載されている。

【０３７９】

特定の免疫細胞、例えば、Ｔ細胞がまた、主要組織適合性複合体（ＭＨＣ）又はヒト白血球抗原（ＨＬＡ）遺伝子を発現し、これらの内因性遺伝子の不活性化が、免疫応答を低減し、それによって、ＣＡＲ　Ｔ細胞の調製のための出発材料としての同種異系Ｔ細胞の使用を可能にし得ることが理解される。したがって、特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、１つ以上の内因性クラスＩ又はクラスＩＩ　ＭＨＣ又はＨＬＡ（例えば、β２－ミクログロブリン（Ｂ２Ｍ）、クラスＩＩ主要組織適合性複合体トランス活性化因子（ＣＩＩＴＡ））の低減された発現を有するように操作される。細胞は、内因性ＭＨＣ又はＨＬＡの部分的に低減された発現を有するか又はその発現を有さないように操作され得る。例えば、特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、対応する非修飾又は親細胞と比べて、８０％未満（例えば、７０％未満、６０％未満、５０％未満、４０％未満、３０％未満、２０％未満、１０％未満、又は５％未満）の内因性ＭＨＣ（例えば、Ｂ２Ｍ、ＣＩＩＴＡ）の発現を有するように操作される。特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、内因性ＭＨＣ（例えば、Ｂ２Ｍ、ＣＩＩＴＡ）の検出

可能な発現を有さないように操作される。ある場合に、細胞は、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞による攻撃を避けるために、例えば、ＨＬＡ－Ｅ及び／又はＨＬＡ－Ｇの発現を有するように操作され得る。ＣＲＩＳＰＲシステムを用いてＭＨＣの発現を低減するための例示的な手法が、Ｌｉｕ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＣＥＬＬ　ＲＥＳ，２７：１５４，Ｒｅｎ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＣＬＩＮ　ＣＡＮＣＥＲ　ＲＥＳ，２３：２２５５、及びＲｅｎ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＯＮＣＯＴＡＲＧＥＴ，８：１７００２に記載されている。

【０３８０】

不活性化され得る他の遺伝子としては、限定はされないが、ＣＤ３、ＣＤ５２、及びデオキシシチジンキナーゼ（ＤＣＫ）が挙げられる。例えば、ＤＣＫの不活性化により、免疫細胞（例えば、Ｔ細胞）が、免疫細胞療法の際のＧＶＨＤ応答を低減するために宿主免疫系を抑制するために多くの場合使用されるプリンヌクレオチド類似体（ＰＮＡ）化合物に対して抵抗性になり得る。特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、対応する非修飾又は親細胞と比べて、８０％未満（例えば、７０％未満、６０％未満、５０％未満、４０％未満、３０％未満、２０％未満、１０％未満、又は５％未満）の内因性ＣＤ５２又はＤＣＫの発現を有するように操作される。

【０３８１】

免疫細胞（例えば、Ｔ細胞）の活性が、免疫抑制因子、例えば、免疫チェックポイントタンパク質の発現を不活性化又は低減することによって向上され得ることが理解される。したがって、特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、免疫チェックポイントタンパク質の低減された発現を有するように操作される。野生型Ｔ細胞によって発現される例示的な免疫チェックポイントタンパク質としては、限定はされないが、ＰＤＣＤ１（ＰＤ－１）、ＣＴＬＡ４、ＡＤＯＲＡ２Ａ（Ａ２ＡＲ）、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＨＡＶＣＲ２（ＴＩＭ３）、ＴＩＧＩＴ、ＶＩＳＴＡ、ＰＴＰＮ６（ＳＨＰ－１）、及びＦＡＳが挙げられる。細胞は、免疫チェックポイントタンパク質の部分的に低減された発現を有するか又はその発現を有さないように修飾され得る。例えば、特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、対応する非修飾又は親細胞と比べて、８０％未満（例えば、７０％未満、６０％未満、５０％未満、４０％未満、３０％未満、２０％未満、１０％未満、又は５％未満）の免疫チェックポイントタンパク質の発現を有するように操作される。特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、免疫チェックポイントタンパク質の検出可能な発現を有さないように操作される。ＣＲＩＳＰＲシステムを用いて免疫チェックポイントタンパク質の発現を低減するための例示的な手法が、国際（ＰＣＴ）公報番号国際公開第２０１７／０１７１８４号パンフレット、Ｃｏｏｐｅｒ　ｅｔ　ａｌ．（２０１８）ＬＥＵＫＥＭＩＡ，３２：１９７０、Ｓｕ　ｅｔ　ａｌ．（２０１６）ＯＮＣＯＩＭＭＵＮＯＬＯＧＹ，６：ｅ１２４９５５８、及びＺｈａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）ＦＲＯＮＴ　ＭＥＤ，１１：５５４に記載されている。

【０３８２】

免疫細胞は、遺伝子編集又は修飾によって、内因性遺伝子、例えば、上記の内因性遺伝子の低減された発現を有するように操作され得る。例えば、特定の実施形態において、本明細書に開示される操作されたＣＲＩＳＰＲシステムは、遺伝子座におけるＤＮＡ切断をもたらし、それによって、標的化された遺伝子を不活性化し得る。他の実施形態において、本明細書に開示される操作されたＣＲＩＳＰＲシステムは、標的遺伝子の発現を低減するために、エフェクタードメイン（例えば、転写抑制因子又はヒストンメチラーゼ）に融合され得る。

【０３８３】

免疫細胞はまた、ヒトＡＤＯＲＡ２Ａ、Ｂ２Ｍ、ＣＤ５２、ＣＩＩＴＡ、ＣＴＬＡ４、ＤＣＫ、ＦＡＳ、ＨＡＶＣＲ２、ＬＡＧ３、ＰＤＣＤ１、ＰＴＰＮ６、ＴＩＧＩＴ、ＴＲＡＣ、ＴＲＢＣ１、ＴＲＢＣ２、ＣＡＲＤ１１、ＣＤ２４７、ＩＬ７Ｒ、ＬＣＫ、又はＰＬＣＧ１遺伝子の遺伝子座において外因性タンパク質（上記の抗原結合タンパク質に加え

て）を発現するように操作され得る。

【０３８４】

特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、ドミナントネガティブ形態の免疫チェックポイントタンパク質を発現するように修飾される。特定の実施形態において、ドミナントネガティブ形態のチェックポイント阻害剤は、本来なら野生型免疫チェックポイントタンパク質に結合し、それを活性化する天然リガンドに結合するか、或いはそれを隔離するデコイ受容体として働き得る。ドミナントネガティブ形態の免疫抑制因子を含有する操作された免疫細胞、例えば、Ｔ細胞の例は、例えば、国際（ＰＣＴ）公報番号国際公開第２０１７／０４０９４５号パンフレットに記載されている。

【０３８５】

特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、免疫細胞の生存、増殖、活性、又は分化（例えば、記憶細胞への）を調節する遺伝子（例えば、転写因子、サイトカイン、又は酵素）を発現するように修飾される。特定の実施形態において、免疫細胞は、ＴＥＴ２、ＦＯＸＯ１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、ＩＬ－１８、ＩＬ－２１、ＩＬ－７、ＧＬＵＴ１、ＧＬＵＴ３、ＨＫ１、ＨＫ２、ＧＡＰＤＨ、ＬＤＨＡ、ＰＤＫ１、ＰＫＭ２、ＰＦＫＦＢ３、ＰＧＫ１、ＥＮＯ１、ＧＹＳ１、及び／又はＡＬＤＯＡを発現するように修飾される。特定の実施形態において、修飾は、調節要素に動作可能に連結されるタンパク質をコードするヌクレオチド配列の挿入である。特定の実施形態において、修飾は、内因性遺伝子における一塩基ヌクレオチド多型（ＳＮＰ）部位の置換である。特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、遺伝子の変異体、例えば、それぞれの野生型遺伝子より高い活性を有する変異体を発現するように修飾される。特定の実施形態において、免疫細胞は、ＣＡＲＤ１１、ＣＤ２４７、ＩＬ７Ｒ、ＬＣＫ、又はＰＬＣＧ１の変異体を発現するように修飾される。例えば、ＩＬ７Ｒのいくつかの機能獲得型変異体が、Ｚｅｎａｔｔｉ　ｅｔ　ａｌ．，（２０１１）ＮＡＴ．ＧＥＮＥＴ．４３（１０）：９３２－３９において開示された。変異体は、変異体又はその部分を有するドナーテンプレートと組み合わせて天然の遺伝子座を標的化するために本明細書に記載される操作されたシステムを送達することによって、それぞれの野生型遺伝子の天然の遺伝子座から発現され得る。

【０３８６】

特定の実施形態において、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞が、免疫細胞が遊走するように設計される微小環境（例えば、腫瘍微小環境）を調節するタンパク質（例えば、サイトカイン又は酵素）を発現するように修飾される。特定の実施形態において、免疫細胞は、ＣＡ９、ＣＡ１２、Ｖ－ＡＴＰａｓｅサブユニット、ＮＨＥ１、及び／又はＭＣＴ－１を発現するように修飾される。

【０３８７】

遺伝子治療

例えば、本明細書に開示される操作された非天然システム及びＣＲＩＳＰＲ発現システムが、遺伝性疾患又は障害、すなわち、対象のゲノム内の望ましくない突然変異に関連するか或いはそのような突然変異によって媒介される疾患又は障害を治療するのに使用され得ることが理解される。

【０３８８】

例示的な遺伝性疾患又は障害としては、加齢性黄斑変性症、副腎白質ジストロフィー（ＡＬＤ）、アラジール症候群、α１－アンチトリプシン欠乏症、アルギニン血症、アルギニノコハク酸尿症、運動失調（例えば、フリードライヒ運動失調、脊髄小脳失調、毛細血管拡張性運動失調症、本態性振戦、痙性対麻痺）、自閉症、胆管閉鎖、ビオチニダーゼ欠損症、カルバモイルリン酸合成酵素Ｉ欠損症、糖タンパク質糖鎖不全症候群（ＣＤＧＳ）、中枢神経系（ＣＮＳ）関連疾患（例えば、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、カナバン病（ＣＤ）、虚血、多発性硬化症（ＭＳ）、神経因性疼痛、パーキンソン病）、ブルーム症候群、癌、シャルコー・マリー・トゥース病（例えば、腓骨筋萎縮症、遺伝性運動感覚ニューロパチー）、先天性肝性ポルフィリン症、シトルリン血症、クリ

グラー・ナジャー症候群、嚢胞性線維症（ＣＦ）、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症（ＤＲＰＬＡ）、尿崩症、ファブリ病、家族性高コレステロール血症（ＬＤＬ受容体欠損）、フォンコーニ貧血、脆弱性Ｘ症候群、脂肪酸代謝異常症、ガラクトース血症、グルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ（Ｇ６ＰＤ）、糖原病（例えば、Ｉ型（グルコース－６－ホスファターゼ欠損症、フォン・ギールケＩＩ（αグルコシダーゼ欠損症、ポンペ病）、ＩＩＩ（脱分枝酵素欠損症、コーリー病）、ＩＶ（分枝酵素欠損症、アンダーソン病）、Ｖ（筋グリコーゲンホスホリラーゼ欠損症、マッカードル病）、ＶＩＩ（筋ホスホフルクトキナーゼ欠損症、タウリ病（Ｔａｕｒｉ））、ＶＩ（肝ホスホリラーゼ欠損症、エール病）、ＩＸ（肝グリコーゲンホスホリラーゼキナーゼ欠損症））、血友病Ａ（第ＶＩＩＩ因子の欠損に関連する）、血友病Ｂ（第ＩＸ因子の欠損に関連する）、ハンチントン病、グルタル酸尿症、低リン血症、クラッベ病、乳酸アシドーシス、ラフォーラ病、レーバー先天性黒内障、レッシュ・ナイハン症候群、リソソーム蓄積症、異染性白質ジストロフィー疾患（ＭＬＤ）、ムコ多糖症（ＭＰＳ）（例えば、ハンター症候群、ハーラー症候群、マロトー・ラミー症候群、サンフィリッポ症候群、シャイエ症候群、モルキオ症候群、その他、ＭＰＳＩ、ＭＰＳＩＩ、ＭＰＳＩＩＩ、ＭＳＩＶ、ＭＰＳ　７）、筋肉／骨格の障害（例えば、筋ジストロフィー、デュシェンヌ型筋ジストロフィー）、筋強直性ジストロフィー（ＤＭ）、新生組織形成、Ｎ－アセチルグルタミン酸合成酵素欠損症、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症、フェニルケトン尿症、原発性開放隅角緑内障、網膜色素変性症、統合失調症、重症複合免疫不全症（ＳＣＩＤ）、球脊髄性筋萎縮症（ＳＢＭＡ）、鎌状赤血球貧血、アッシャー症候群、テイ・サックス病、サラセミア（例えば、β－サラセミア）、トリヌクレオチドリピート病、チロシン血症、ウィルソン病、ウィスコット・アルドリッチ症候群、Ｘ連鎖性慢性肉芽腫症（ＣＧＤ）、Ｘ連鎖性重症複合免疫不全症、及び色素性乾皮症が挙げられる。

【０３８９】

さらなる例示的な遺伝性疾患又は障害及び関連する情報は、ｋｕｍｃ．ｅｄｕ／ｇｅｃ／ｓｕｐｐｏｒｔ、ｇｅｎｏｍｅ．ｇｏｖ／１０００１２００、及びｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｂｏｏｋｓ／ＮＢＫ２２１８３／のワールドワイドウェブにおいて入手可能である。さらなる例示的な遺伝性疾患又は障害、関連する遺伝子突然変異、及び遺伝性疾患又は障害を治療するための遺伝子治療手法は、国際（ＰＣＴ）公報番号国際公開第２０１３／１２６７９４号パンフレット、国際公開第２０１３／１６３６２８号パンフレット、国際公開第２０１５／０４８５７７号パンフレット、国際公開第２０１５／０７００８３号パンフレット、国際公開第２０１５／０８９３５４号パンフレット、国際公開第２０１５／１３４８１２号パンフレット、国際公開第２０１５／１３８５１０号パンフレット、国際公開第２０１５／１４８６７０号パンフレット、国際公開第２０１５／１４８８６０号パンフレット、国際公開第２０１５／１４８８６３号パンフレット、国際公開第２０１５／１５３７８０号パンフレット、国際公開第２０１５／１５３７８９号パンフレット、及び国際公開第２０１５／１５３７９１号パンフレット、米国特許第８，３８３，６０４号明細書、同第８，８５９，５９７号明細書、同第８，９５６，８２８号明細書、同第９，２５５，１３０号明細書、及び同第９，２７３，２９６号明細書、並びに米国特許出願公開第２００９／０２２２９３７号明細書、同第２００９／０２７１８８１号明細書、同第２０１０／０２２９２５２号明細書、同第２０１０／０３１１１２４号明細書、同第２０１１／００１６５４０号明細書、同第２０１１／００２３１３９号明細書、同第２０１１／００２３１４４号明細書、同第２０１１／００２３１４５号明細書、同第２０１１／００２３１４６号明細書、同第２０１１／００２３１５３号明細書、同第２０１１／００９１４４１号明細書、同第２０１２／０１５９６５３号明細書、及び同第２０１３／０１４５４８７号明細書に記載されている。

【０３９０】

ＶＩ．キット

本明細書に開示されるガイド核酸、操作された非天然システム、ＣＲＩＳＰＲ発現システム、及び／又はライブラリーが、医療提供者による使用に好適なキットにおいて包装さ

れ得ることが理解される。したがって、別の態様において、本発明は、上記のシステム、ライブラリー、方法、及び組成において開示される要素のいずれか１つ以上を含むキットを提供する。特定の実施形態において、キットは、本明細書に開示される操作された非天然システム及びキットを使用するための使用説明書を含む。使用説明書は、本明細書に記載される用途及び方法に固有のものであり得る。特定の実施形態において、システムの要素のうちの１つ以上が、溶液で提供される。特定の実施形態において、システムの要素のうちの１つ以上が、凍結乾燥形態で提供され、キットは、希釈剤をさらに含む。要素は、個々に又は組合せで提供されてもよく、任意の好適な容器、例えば、バイアル、ボトル、チューブ中で提供されてもよく、又は固体基材（例えば、チップ又はマイクロアレイ）の表面上に固定化される。特定の実施形態において、キットは、本明細書に記載される核酸及び／又はタンパク質のうちの１つ以上を含む。特定の実施形態において、キットは、本発明のシステムの全ての要素を含む。

【０３９１】

操作された非天然デュアルガイドシステムを含むキットの特定の実施形態において、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、別個の容器中で提供される。他の実施形態において、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、予め複合体形成され、複合体は、単一の容器中で提供される。

【０３９２】

特定の実施形態において、キットは、Ｃａｓタンパク質又は別個の容器中で提供されるＣａｓタンパク質をコードする核酸に動作可能に連結される調節要素を含む核酸を含む。他の実施形態において、キットは、シングルガイド核酸又はターゲッター核酸及びモジュレーター核酸の組合せと予め複合体形成されるＣａｓタンパク質を含み、複合体は、単一の容器中で提供される。

【０３９３】

特定の実施形態において、キットは、１つ以上の別個の容器中で提供される１つ以上のドナーテンプレートをさらに含む。特定の実施形態において、キットは、本明細書に開示される複数のドナーテンプレート（例えば、別個のチューブ中で又はチップ又はマイクロアレイなどの固体基材の表面上に固定化される）、本明細書に開示される１つ以上のガイド核酸、及び任意に、Ｃａｓタンパク質又は本明細書に開示されるＣａｓタンパク質をコードする核酸に動作可能に連結される調節要素を含む。このようなキットは、マルチプレックスアッセイにおいて最適な遺伝子修飾を導入するドナーテンプレートを同定するのに有用である。本明細書に開示されるＣＲＩＳＰＲ発現システムはまた、キットにおける使用に好適である。

【０３９４】

特定の実施形態において、キットは、本明細書に記載される要素の１つ以上を用いるプロセスにおいて使用するための１つ以上の試薬及び／又は緩衝液をさらに含む。試薬は、任意の好適な容器中で提供されてもよく、特定のアッセイにおいて使用可能な形態、又は使用前に１つ以上の他の成分の添加を必要とする形態（例えば、濃縮物又は凍結乾燥形態）で提供され得る。緩衝液は、限定はされないが、炭酸ナトリウム緩衝液、炭酸水素ナトリウム緩衝液、ホウ酸緩衝液、Ｔｒｉｓ緩衝液、ＭＯＰＳ緩衝液、ＨＥＰＥＳ緩衝液、及びそれらの組合せを含む反応又は貯蔵緩衝液であり得る。いくつかの実施形態において、緩衝液は、アルカリ性である。特定の実施形態において、緩衝液は、約７～約１０のｐＨを有する。特定の実施形態において、キットは、薬学的に許容される担体をさらに含む。特定の実施形態において、キットは、対象への投与のための１つ以上のデバイス又は他の材料をさらに含む。

【０３９５】

ＶＩＩ．実施形態

実施形態１において、配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一であるポリペプチドが、本明細書において提供さ

れる。実施形態２において、ポリペプチドが、配列番号８６～１０４、１１６～１２４、又は２０４４～２０７０のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一である、実施形態１に記載のポリペプチドが、本明細書において提供される。実施形態３において、配列同一性が、少なくとも９０％である、実施形態１又は２のいずれか１つに記載のポリペプチドが、本明細書において提供される。実施形態４において、配列同一性が、少なくとも９５％である、実施形態１又は２のいずれか１つに記載のポリペプチドが、本明細書において提供される。実施形態５において、配列同一性が、少なくとも９９％である、実施形態１又は２のいずれか１つに記載のポリペプチドが、本明細書において提供される。実施形態６において、配列同一性が、少なくとも９９．５％である、実施形態１又は２のいずれか１つに記載のポリペプチドが、本明細書において提供される。実施形態７において、配列同一性が、１００％である、実施形態１又は２のいずれか１つに記載のポリペプチドが、本明細書において提供される。

【０３９６】

実施形態８において、実施形態１～７のいずれか１つに記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。

【０３９７】

実施形態９において、（ａ）実施形態１～７のいずれか１つに記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；及び／又は（ｂ）実施形態１～７のいずれか１つに記載のポリペプチドを含む細胞が、本明細書において提供される。

【０３９８】

実施形態１０において、第１のポリペプチドをコードする第１の配列を含む第１の部分を含むポリヌクレオチドであって、第１のポリペプチドが、第１のキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）又はその部分を含む、ポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。実施形態１１において、ポリヌクレオチドが、第１のＣＡＲ又はその部分と異なる第２のＣＡＲ又はその部分を含む第２のポリペプチドをコードする第２の配列を含む第２の部分をさらに含む、実施形態１０に記載のポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。実施形態１２において、第１及び第２のポリペプチドが、別個のポリペプチドである、実施形態１１に記載のポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。実施形態１３において、第１及び第２のポリペプチドが連結される、実施形態１１に記載のポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。実施形態１４において、第１及び第２のポリペプチドが、１つ以上のアミノ酸によって連結される、実施形態１３に記載のポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。実施形態１５において、第１のＣＡＲ又はその部分が、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合する、実施形態１０～１４のいずれか１つに記載のポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。実施形態１６において、第２のＣＡＲ又はその部分が、第１のＣＡＲ又はその部分の結合パートナーと異なる、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合する、実施形態１４に記載のポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。実施形態１７において、第２のＣＡＲ又はその部分が、同じ結合パートナーにおける異なる側に結合する、実施形態１４に記載のポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。実施形態１８において、第１又は第２のポリペプチドが、配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一であるポリペプチドを含む、実施形態１０～１７のいずれか１つに記載のポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。実施形態１９において、第１又は第２のポリペプチドが、配列番号８６～１０４、１１６～１２４、又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一

であるポリペプチドを含む、実施形態１８に記載のポリヌクレオチドが、本明細書において提供される。

【０３９９】

実施形態２０において、実施形態１０～１９のいずれか１つに記載の第１のポリヌクレオチドを含む細胞が、本明細書において提供される。実施形態２１において、細胞が、実施形態１０～１９のいずれか１つに記載の第２のポリヌクレオチドをさらに含み、第２のポリヌクレオチドが、第１のポリヌクレオチドと異なる、実施形態２０に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態２２において、第１及び／又は第２のポリヌクレオチドが、第１及び／又は第２のポリペプチドをコードする第１及び／又は第２の配列に隣接する相同性アームをさらに含む、実施形態２０又は２１のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態２３において、核酸誘導型ヌクレアーゼをさらに含む、実施形態２０又は２２のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態２４において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、操作された非天然ヌクレアーゼを含む、実施形態２３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態２５において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、クラス１又はクラス２ヌクレアーゼを含む、実施形態２３又は２４のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態２６において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＩＩ型又はＶ型ヌクレアーゼを含む、実施形態２５に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態２７において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、Ｖ－Ａ、Ｖ－Ｂ、Ｖ－Ｃ、Ｖ－Ｄ、又はＶ－Ｅ型ヌクレアーゼを含む、実施形態２６に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態２８において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、Ｖ－Ａ型ヌクレアーゼを含む、実施形態２７に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態２９において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤヌクレアーゼ、ＡＲＴヌクレアーゼ、又はＡＢＷヌクレアーゼを含む、実施形態２８に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態３０において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ、ＡＲＴ、又はＡＢＷヌクレアーゼのアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態２９に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態３１において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ１、ＭＡＤ２、ＭＡＤ３、ＭＡＤ４、ＭＡＤ５、ＭＡＤ６、ＭＡＤ７、ＭＡＤ８、ＭＡＤ９、ＭＡＤ１０、ＭＡＤ１１、ＭＡＤ１２、ＭＡＤ１３、ＭＡＤ１４、ＭＡＤ１５、ＭＡＤ１６、ＭＡＤ１７、ＭＡＤ１８、ＭＡＤ１９、又はＭＡＤ２０ヌクレアーゼを含む、実施形態２９に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態３２において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＡＲＴ１、ＡＲＴ２、ＡＲＴ３、ＡＲＴ４、ＡＲＴ５、ＡＲＴ６、ＡＲＴ７、ＡＲＴ８、ＡＲＴ９、ＡＲＴ１０、ＡＲＴ１１、ＡＲＴ１１＊、ＡＲＴ１２、ＡＲＴ１３、ＡＲＴ１４、ＡＲＴ１５、ＡＲＴ１６、ＡＲＴ１７、ＡＲＴ１８、ＡＲＴ１９、ＡＲＴ２０、ＡＲＴ２１、ＡＲＴ２２、ＡＲＴ２３、ＡＲＴ２４、ＡＲＴ２５、ＡＲＴ２６、ＡＲＴ２７、ＡＲＴ２８、ＡＲＴ２９、ＡＲＴ３０、ＡＲＴ３１、ＡＲＴ３２、ＡＲＴ３３、ＡＲＴ３４、又はＡＲＴ３５ヌクレアーゼを含む、実施形態２９に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態３３において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ２、ＭＡＤ７、ＡＲＴ２、ＡＲＴ１１、又はＡＲＴ１１＊のアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９％同一であるか、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態２９に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態３４において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、配列番号３７のアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９％同一であるか、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態２９に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態３５において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、核局在化シグナル（ＮＬＳ）、精製タグ、及び／又は切断部位をさらに含む、実施形態２４～３４のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態３６において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、少なくとも４つのＮＬＳを含む、実施形態３５に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態３７において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、１つのＮ末端及び３つのＣ末端ＮＬＳを含む、実施形態３６に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態

３８において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、少なくとも５つのＮＬＳを含む、実施形態３５に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態３９において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、５つのＮ末端ＮＬＳを含む、実施形態３８に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態４０において、ＮＬＳが、配列番号４０～５６のいずれか１つを含む、実施形態３５～３９のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態４１において、ＮＬＳが、配列番号４０、５１、及び５６のいずれか１つを含む、実施形態４０に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態４２において、ガイド核酸（ｇＮＡ）をさらに含む、実施形態２０～４１のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態４３において、ｇＮＡが、（ｉ）ターゲッターステム配列及びスペーサー配列を含むターゲッター核酸；及び（ｉｉ）ターゲッターステム配列に相補的なモジュレーターステム配列、及び、任意に、５’配列を含むモジュレーター核酸を含む、実施形態４２に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態４４において、ｇＮＡが、操作された非天然ガイド核酸である、実施形態４３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態４５において、ｇＮＡが、単一のポリヌクレオチドを含む、実施形態４３又は４４のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態４６において、ｇＮＡが、デュアルガイド核酸を含み、ここで、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、別個のポリヌクレオチドである、実施形態４３又は４４のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態４７において、デュアルｇＮＡが、天然システム中で、ｔｒａｃｒＲＮＡの非存在下で単一のｃｒＲＮＡによって活性化される核酸誘導型ヌクレアーゼに結合し、それを活性化することが可能である、実施形態４６に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態４８において、ｇＮＡ及び核酸誘導型ヌクレアーゼが、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体を形成する、実施形態４２～４７のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態４９において、ｇＮＡが、ドナーテンプレートリクルート配列をさらに含む、実施形態４２～４８の１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態５０において、第１及び／又は第２のポリヌクレオチドが、細胞のゲノムにおける第１及び／又は第２の位置に組み込まれる、実施形態２０～４９のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態５１において、細胞のゲノムにおける第１及び／又は第２の位置が、セーフハーバー部位又はＨＬＡ－１、ＨＬＡ－２、若しくはＴＲＣタンパク質のサブユニットをコードする遺伝子を含む、実施形態５０に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態５２において、細胞のゲノムの位置が、ＴＲＡＣ遺伝子を含む、実施形態５０に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態５３において、スペーサー配列が、細胞のゲノムにおける第１及び／又は第２の位置内又はその近くで標的配列に少なくとも部分的に相補的である、実施形態５０～５２のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態５４において、スペーサー配列が、細胞のゲノムにおける第１及び／又は第２の位置内又はその近くで標的配列と少なくとも５０、６０、７０、８０、９０、９５、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一である、実施形態５３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態５５において、第１及び／又は第２のポリペプチドが、発現される、実施形態２０～５４のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態５６において、第１及び第２のポリペプチドが、細胞の表面上で発現される、実施形態５５に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態５７において、第２のポリペプチドの発現が、細胞の状態の変化を示すシグナルによって開始される、実施形態５５に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態５８において、第１のポリペプチドへの結合パートナーの結合が、細胞の状態の変化を示すシグナルを開始させる、実施形態５７に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態５９において、第１のポリペプチドが、細胞の表面上で発現され、第２のポリペプチドが分泌される、実施形態５５に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態６０において、第２のポリペプチドの発現が、細胞の状態の変化を示すシグナルによって開始される、実施形態５９に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態６１において、第１のポリペプチドへの結

合パートナーの結合が、細胞の状態の変化を示すシグナルを開始させる、実施形態６０に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態６２において、細胞が、ヒト細胞である、実施形態２０～６１のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態６３において、ヒト細胞が、免疫細胞又は幹細胞である、実施形態６２に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態６４において、ヒト細胞が、好中球、好酸球、好塩基球、肥満細胞、単球、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、又はリンパ球を含む免疫細胞である、実施形態６２に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態６５において、ヒト細胞が、Ｔ細胞である、実施形態６２に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態６６において、ヒト細胞が、ヒト万能性、多能性幹細胞、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞、造血幹細胞、ＣＤ３４＋細胞である幹細胞である、実施形態６２に記載の細胞が、本明細書において提供される。

【０４００】

実施形態６７において、（ａ）第１のＣＡＲ又はその部分を含む第１のポリペプチドをコードする第１の配列を含む第１の部分を含む第１のポリヌクレオチドを含む細胞が、本明細書において提供される。実施形態６８において、（ｂ）核酸誘導型ヌクレアーゼシステム、いずれか／又はシステムの１つ以上の部分をコードする１つ以上のポリヌクレオチドをさらに含み、システムが、（ｉ）核酸誘導型ヌクレアーゼ；及び（ｉｉ）核酸誘導型ヌクレアーゼと適合するガイド核酸（ｇＮＡ）を含む、実施形態６７に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態６９において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、Ｖ型核酸誘導型ヌクレアーゼを含む、実施形態６８に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態７０において、第１のポリヌクレオチドが、ドナーテンプレートを含む、実施形態６７～６９のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態７１において、第１のポリヌクレオチドが、第２のＣＡＲ又はその部分を含む第２のポリペプチドをコードする第２の配列を含む第２の部分をさらに含む、実施形態６７～７０のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態７２において、細胞が、第２のＣＡＲ又はその部分を含む第２のポリペプチドをコードする第２の配列を含む第２のポリヌクレオチドをさらに含む、実施形態６７～７０のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態７３において、ここで、第２のＣＡＲ又はその部分は、第１のＣＡＲ又はその部分と異なる、実施形態７１又は７２のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態７４において、第１及び／又は第２のポリヌクレオチドの少なくとも一部が、細胞のゲノムにおける位置内に挿入される、実施形態６７～７３のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態７５において、第１のポリヌクレオチドが、細胞のゲノムにおける第１の位置内に挿入され、第２のポリヌクレオチドが、細胞のゲノムにおける第２の位置内に挿入され、第１の位置が、第２の位置と異なる、実施形態７４に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態７６において、第１のＣＡＲ又はその部分が、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するポリペプチドを含む、実施形態６７～７５のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態７７において、第２のＣＡＲ又はその部分が、第１のＣＡＲ又はその部分の結合パートナーと異なる、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するポリペプチドを含む、実施形態７６に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態７８において、第１のＣＡＲ又はその部分が、配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一であるポリペプチドを含む、実施形態７６又は７７のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態７９において、第１及び／又は第２のポリペプチドが、発現される、実施形態６７～７８のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態８０において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、操作さ

れた非天然ヌクレアーゼを含む、実施形態６７～７９のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態８１において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、Ｖ－Ａ、Ｖ－Ｂ、Ｖ－Ｃ、Ｖ－Ｄ、又はＶ－Ｅ型ヌクレアーゼを含む、実施形態６７～８０のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態８２において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、Ｖ－Ａ型ヌクレアーゼを含む、実施形態８１に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態８３において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤヌクレアーゼ、ＡＲＴヌクレアーゼ、又はＡＢＷヌクレアーゼを含む、実施形態８２に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態８４において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ、ＡＲＴ、又はＡＢＷヌクレアーゼのアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９％同一であるか、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態８３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態８５において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ１、ＭＡＤ２、ＭＡＤ３、ＭＡＤ４、ＭＡＤ５、ＭＡＤ６、ＭＡＤ７、ＭＡＤ８、ＭＡＤ９、ＭＡＤ１０、ＭＡＤ１１、ＭＡＤ１２、ＭＡＤ１３、ＭＡＤ１４、ＭＡＤ１５、ＭＡＤ１６、ＭＡＤ１７、ＭＡＤ１８、ＭＡＤ１９、又はＭＡＤ２０ヌクレアーゼを含む、実施形態８３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態８６において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＡＲＴ１、ＡＲＴ２、ＡＲＴ３、ＡＲＴ４、ＡＲＴ５、ＡＲＴ６、ＡＲＴ７、ＡＲＴ８、ＡＲＴ９、ＡＲＴ１０、ＡＲＴ１１、ＡＲＴ１１＊、ＡＲＴ１２、ＡＲＴ１３、ＡＲＴ１４、ＡＲＴ１５、ＡＲＴ１６、ＡＲＴ１７、ＡＲＴ１８、ＡＲＴ１９、ＡＲＴ２０、ＡＲＴ２１、ＡＲＴ２２、ＡＲＴ２３、ＡＲＴ２４、ＡＲＴ２５、ＡＲＴ２６、ＡＲＴ２７、ＡＲＴ２８、ＡＲＴ２９、ＡＲＴ３０、ＡＲＴ３１、ＡＲＴ３２、ＡＲＴ３３、ＡＲＴ３４、又はＡＲＴ３５ヌクレアーゼを含む、実施形態８３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態８７において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ２、ＭＡＤ７、ＡＲＴ２、ＡＲＴ１１、又はＡＲＴ１１＊のアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９％同一であるか、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態８３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態８８において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、配列番号３７のアミノ酸配列と少なくとも８０、８５、９０、９５、９９％同一であるか、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態８３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態８９において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、核局在化シグナル（ＮＬＳ）、精製タグ、及び／又は切断部位をさらに含む、実施形態６７～８８のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態９０において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、少なくとも４つのＮＬＳを含む、実施形態８９に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態９１において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、１つのＮ末端及び３つのＣ末端ＮＬＳを含む、実施形態９０に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態９２において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、少なくとも５つのＮＬＳを含む、実施形態９０に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態９３において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、５つのＮ末端ＮＬＳを含む、実施形態９２に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態９４において、ＮＬＳが、配列番号４０～５６のいずれか１つを含む、実施形態８９～９３のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態９５において、ＮＬＳが、配列番号４０、５１、及び５６を含む、実施形態９４に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態９６において、ｇＮＡが、以下を含み：（１）ターゲッターステム配列及びスペーサー配列を含むターゲッター核酸が本明細書において提供され；（２）ターゲッターステム配列に相補的なモジュレーターステム配列、及び、任意に、５’配列を含むモジュレーター核酸が本明細書において提供される、実施形態６７～９５のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態９７において、ｇＮＡが、操作された非天然ガイド核酸である、実施形態６７～９６のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態９８において、ｇＮＡが、単一のポリヌクレオチドを含む、実施形態６７～９７のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態９９において、ｇＮＡが、デュアルガイド核酸を含み、ここで、ターゲッター核酸及びモジュレーター核酸は、

別個のポリヌクレオチドである、実施形態６７～９７のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１００において、デュアルｇＮＡが、天然システム中で、ｔｒａｃｒＲＮＡの非存在下で単一のｃｒＲＮＡによって活性化される核酸誘導型ヌクレアーゼに結合し、それを活性化することが可能である、実施形態９９に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１０１において、ｇＮＡ及び核酸誘導型ヌクレアーゼが、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体を形成する、実施形態６７～１００のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１０２において、ｇＮＡが、ドナーテンプレートリクルート配列をさらに含む、実施形態６７～１０１のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１０３において、細胞が、ヒト細胞である、実施形態６７～１０２のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１０４において、ヒト細胞が、免疫細胞又は幹細胞である、実施形態１０３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１０５において、ヒト細胞が、好中球、好酸球、好塩基球、肥満細胞、単球、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、又はリンパ球を含む免疫細胞である、実施形態１０３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１０６において、ヒト細胞が、Ｔ細胞である、実施形態１０３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１０７において、ヒト細胞が、ヒト万能性、多能性幹細胞、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞、造血幹細胞、ＣＤ３４＋細胞である幹細胞である、実施形態１０３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１０８において、ヒト細胞が、人工多能性幹細胞である、実施形態１０３に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１０９において、細胞が、同種異系宿主内に配置されるとき、低下された免疫原性を示す細胞である、実施形態１０３～１０８のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１１０において、細胞が、同種異系宿主内に配置されるとき、非免疫原性である、実施形態１０９に記載の細胞が、本明細書において提供される。

【０４０１】

実施形態１１１において、第１及び第２の細胞集団を含む複数の細胞集団を含む組成物であって、（ａ）第１の細胞集団が、（ｉ）ゲノムの第１の位置における第１のＣＡＲ又はその部分をコードする第１のポリヌクレオチドの挿入を含む第１のゲノム修飾；及び（ｉｉ）ゲノムの第２の位置における第２のＣＡＲ又はその部分をコードする第２のポリヌクレオチドの挿入を含む第２のゲノム修飾を含み；（ｂ）第２の細胞集団が、第１のゲノム修飾又は第２のゲノム修飾を含むが、両方を含むわけではない、組成物が、本明細書において提供される。実施形態１１２において、第１及び第２の細胞集団と異なる第３の細胞集団をさらに含み、第３の細胞集団が、第１のゲノム修飾又は第２のゲノム修飾を含むが、両方を含むわけではない、実施形態１１１に記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１１３において、第１、第２、及び第３の細胞集団と異なる第４の細胞集団をさらに含む、実施形態１１２に記載の組成物が、本明細書において提供される。

【０４０２】

実施形態１１４において、薬学的に許容される賦形剤及び実施形態２０～１１３のいずれか１つに記載の組成物を含む組成物が、本明細書において提供される。

【０４０３】

実施形態１１５において、組成物であって、（ａ）第１のＶ型核酸誘導型ヌクレアーゼ；（ｂ）第１のガイド核酸（ｇＮＡ）；及び（ｃ）第１のＣＡＲ又はその部分を含む第１のポリペプチドをコードする第１のポリヌクレオチドを含む第１のドナーテンプレートを含む組成物が、本明細書において提供される。実施形態１１６において、（ｄ）第２のＶ型核酸誘導型ヌクレアーゼ；（ｅ）第２のｇＮＡ；及び（ｆ）ＣＡＲ又はその部分を含む第２のポリペプチドをコードする第２のポリヌクレオチドを含む第２のドナーテンプレートをさらに含む、実施形態１１５に記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１１７において、（ｇ）第３のＶ型核酸誘導型ヌクレアーゼ；（ｈ）第３のｇＮＡ；及び（ｉ）第１及び又は第２のポリヌクレオチドと異なる第３のポリヌクレオチドを含む第３のドナーテンプレートをさらに含む、実施形態１１６に記載の組成物が、本明細書に

おいて提供される。実施形態１１８において、核酸誘導型ヌクレアーゼが、ＭＡＤ７を含む、実施形態１１５～１１７のいずれか１つに記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１１９において、ｇＮＡが、デュアルｇＮＡを含む、実施形態１１５～１１８のいずれか１つに記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１２０において、第１及び第２のポリペプチドが、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するＣＡＲ又はその部分を含む、実施形態１１５～１１９のいずれか１つに記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１２１において、第１及び第２のポリペプチドが、配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一である、実施形態１２０に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１２２において、第１及び第２のポリペプチドが、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するＣＡＲ又はその部分を含む、実施形態１１５～１１９のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１２３において、第１及び第２のポリペプチドが、配列番号８６～１０４、１１６～１２４、又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一である、実施形態１２２に記載の細胞が、本明細書において提供される。実施形態１２４において、第１のＣＡＲ又はその部分が、第２のＣＡＲ又はその部分と異なる結合パートナーに結合する、実施形態１１５～１２３のいずれか１つに記載の細胞が、本明細書において提供される。

【０４０４】

実施形態１２５において、薬学的に許容される賦形剤及び実施形態２０～１２４のいずれか１つに記載の細胞を含む組成物が、本明細書において提供される。

【０４０５】

実施形態１２６において、標的細胞のゲノムにおける複数の部位を編集するための組成物であって、各整数ｘについて、組成物が、（ａ）ＣＡＲ又はその部分（ＣＡＲ）ｘを含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むドナーテンプレート（Ｄ）ｘ；（ｂ）Ｖ型核酸誘導型ヌクレアーゼ（Ｎ）ｘ；（ｃ）ガイド核酸（ｇＮＡ）ｘを含み；ここで、（ＣＡＲ）ｘが、各整数について異なる、組成物が、本明細書において提供される。実施形態１２７において、（Ｎ）ｘが、ＭＡＤ７を含む、実施形態１２６に記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１２８において、（ｇＮＡ）ｘが、デュアルｇＮＡを含む、実施形態１２６又は１２７のいずれか１つに記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１２９において、（Ｄ）ｘが、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、実施形態１２６～１２８のいずれか１つに記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１３０において、（Ｄ）ｘが、配列番号８６～１２４又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一であるポリペプチドを含むＣＡＲ又はその部分をコードするポリヌクレオチドを含む、実施形態１２９に記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１３１において、（Ｄ）ｘが、Ｂ７Ｈ３、ＢＣＭＡ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＤ８、ＣＤ８ａ、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、若しくはＣＤ３ζ又はその部分を含む結合パートナーに結合するＣＡＲ又はその部分を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、実施形態１２６～１２８のいずれか１つに記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１３２において、（Ｄ）ｘが、配列番号８６～１０４、１１６～１２４、又は２０４４～２０７０のアミノ酸配列のいずれか１つと少

なくとも６０、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、９９、９９．５％同一であるか、又は１００％同一であるポリペプチドを含むＣＡＲ又はその部分をコードするポリヌクレオチドを含む、実施形態１３２に記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１３３において、異なる整数ｘの数が、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、又は９且つ１０、９、８、６、５、４、又は３以下である、実施形態１２６～１３２のいずれか１つに記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１３４において、異なる整数ｘの数が２～１０である、実施形態１３３に記載の組成物が、本明細書において提供される。実施形態１３５において、異なる整数ｘの数が２～５である、実施形態１３４に記載の組成物が、本明細書において提供される。

【０４０６】

実施形態１３６において、実施形態１１５～１２５のいずれか１つに記載の第１の組成物を、標的細胞内に導入することを含む、標的細胞のゲノムを編集するための方法が、本明細書において提供される。実施形態１３７において、組成物を細胞内に導入する前に、核酸誘導型ヌクレアーゼ複合体を安定させる添加剤を、第１の組成物に添加することをさらに含む、実施形態１３６に記載の方法が、本明細書において提供される。実施形態１３８において、導入が、エレクトロポレーションを含む、実施形態１３６又は１３７に記載の方法が、本明細書において提供される。実施形態１３９において、組成物を細胞内に導入する前又は後に、非相同末端結合（ＮＨＥＪ）を低減する添加剤を細胞増殖培地に添加することをさらに含む、実施形態１３６～１３８のいずれか１つに記載の方法が、本明細書において提供される。実施形態１４０において、組成物を細胞内に導入した後、細胞を増殖させることをさらに含む、実施形態１３６～１３９のいずれか１つに記載の方法が、本明細書において提供される。実施形態１４１において、組成物を細胞内に導入し、及び／又は増殖させた後、細胞を分化させることをさらに含む、実施形態１３６～１３９のいずれか１つに記載の方法が、本明細書において提供される。実施形態１４２において、実施形態１１５～１２５のいずれか１つに記載の組成物を含む第２の組成物を導入することをさらに含み、第２の組成物が、細胞内の第１の組成物及び／又は細胞の子孫と異なる、実施形態１３６～１４１のいずれか１つに記載の方法が、本明細書において提供される。実施形態１４３において、実施形態１１５～１２５のいずれか１つに記載の組成物を含む第３の組成物を導入することをさらに含み、第３の組成物が、細胞内の第１及び／若しくは第２の組成物及び／又は細胞の子孫と異なる、実施形態１４２に記載の方法が、本明細書において提供される。

【０４０７】

１．実施形態１４４において、実施形態９又は実施形態２０～１１０のいずれか１つに記載の１つ又は複数の細胞の１つ以上の子孫が、本明細書において提供される。

【実施例】

【０４０８】

ＶＩＩＩ．実施例

Ａ．実施例１

初代ヒト汎Ｔ細胞を、全リューコパック（ｌｅｕｋｏｐａｋ）から単離し、受領の当日に処理し、ＣＤ３陽性汎Ｔ細胞を、他の末梢血単核細胞から分離した。細胞を、生存率、ＣＤ３発現、及びＣＤ４／ＣＤ８陽性について、陰性選択の前及び後に、フローサイトメトリーによって特性評価した。細胞を、適切なサイズ／形状についてゲーティングし、一重項を選択した。細胞は、汎Ｔ細胞の濃縮の前及び後に、＞９８％の生存率を示し、陰性選択手法は、７６．８％から９７．０％までのＣＤ３陽性細胞の濃縮をもたらした。さらに、ＣＤ４：ＣＤ８比を、濃縮を通して維持した。細胞を、凍結させ、必要に応じて使用した。生細胞（アクリジンオレンジ陽性細胞）を死細胞（ＤＡＰＩ陽性細胞）と区別するために、細胞をアクリジンオレンジ及びＤＡＰＩで染色した後、Ｎｕｃｌｅｏｃｏｕｎｔｅｒ　ＮＣ－２００及びＶｉａ１カセットを用いて１．４μＬの体積を有するフローセル中でのイメージングによって、生存率を測定した。

【０４０９】

ヌクレオフェクション緩衝液、ヌクレオフェクションプログラム（ＥＯ－１１５）、及びＩＬ－２濃度（２００ＩＵ／ｍＬ）を含む、初代ヒト汎Ｔ細胞に固有のヌクレオフェクション条件を、Ｌｏｎｚａによる勧告及びヌクレオフェクション溶液から得た。２つのＣＡＲのそれぞれについて８～１２％のＣＡＲ発現が観察された（図９Ａ及びＢ；シングル（ＦＬ　ｇＲＮＡ）及びデュアル（ＳＴＡＲ）ｇＲＮＡそれぞれについて第２及び第３のバー）。より高い挿入速度を得るために、ヌクレオフェクションプログラムＥＨ－１１５を用いるプロトコルにおけるさらなる最適化、ヌクレオフェクション後の細胞培養においてＩＬ－２濃度を５００ＩＵに増加させることを行った。さらに、ヌクレオフェクション反応にｓｓＯＤＮを含めることにより、初代ヒト汎Ｔ細胞内における遺伝子編集試薬の送達が増加された。具体的には、ヌクレオフェクション溶液中に２００ｎｔのｓｓＯＤＮを含めることにより、ヌクレオフェクションの１１日後の時点で高い生存率及び１μｇの線形化ｄｓＤＮＡ（ｌｄｓＰＬＡ０７４）を使用する場合の４０％までのＣＡＲ発現が得られた。ヌクレオフェクション挿入プロトコルにｓｓＯＤＮを含めることにより、ヌクレオフェクションの１１～１２日後の時点で総細胞集団の４０～７０％のＣＡＲ発現細胞集団を一貫して生成した、図９Ａ及びＢ；第４のバー）。具体的には、図３Ａは、３つの処理条件後にフローサイトメトリーによって測定される際のＨＬＡ－１、ＨＬＡ－２、及びＴＣＲのトリプルノックアウト（ＫＯ）を含む３つの同時のゲノム修飾のための編集効率を示す：（１）非処理の対照；（２）線状二本鎖ＤＮＡ（ｌｄｓＰＬＡ０７４）の存在下における単一のポリヌクレオチドを含むｇＲＮＡ（ＦＬ　ｇＲＮＡ）による処理；（３）線状二本鎖ＤＮＡの存在下におけるデュアルガイドＲＮＡを含むｇＲＮＡ（ＳＴＡＲ）による処理；及び（４）上記の改善した条件を用いた、線状二本鎖ＤＮＡの存在下におけるデュアルガイドＲＮＡを含むｇＲＮＡ（ＳＴＡＲ）による処理。具体的には、図９Ｂは、３つの処理条件後にフローサイトメトリーによって測定される際の、ＨＬＡ－１、ＨＬＡ－２、及びＴＣＲのトリプルノックアウト（ＫＯ）並びにＣＡＲポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの挿入を含む３つの同時のゲノム修飾のための編集効率を示す：（１）非処理の対照；（２）線状二本鎖ＤＮＡ（ｌｄｓＰＬＡ０７４）の存在下における単一のポリヌクレオチドを含むｇＲＮＡ（ＦＬ　ｇＲＮＡ）による処理；（３）線状二本鎖ＤＮＡの存在下におけるデュアルガイドＲＮＡを含むｇＲＮＡ（ＳＴＡＲ）による処理；及び（４）上記の改善した条件を用いた、線状二本鎖ＤＮＡの存在下におけるデュアルガイドＲＮＡを含むｇＲＮＡ（ＳＴＡＲ）による処理。

【０４１０】

ＩＸ．均等物

本明細書全体を通して、組成物が、特定の構成要素を有する（ｈａｖｉｎｇ）、含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）、若しくは含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）と記載される場合、又はプロセス及び方法が、特定の工程を有する（ｈａｖｉｎｇ）、含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）、若しくは含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）と記載される場合、さらに、記載される構成要素から本質的になる又はそれからなる、本発明の組成物が存在すること、及び記載される処理工程から本質的になる又はそれからなる、本発明によるプロセス及び方法が存在することが考えられる。

【０４１１】

本出願において、要素若しくは構成要素が、記載される要素若しくは構成要素のリストに含まれるか、及び／又はそれから選択されると記載される場合、要素若しくは構成要素は、記載される要素若しくは構成要素のいずれか１つであり得るか、又は要素若しくは構成要素が、記載される要素若しくは構成要素のうちの２つ以上からなる群から選択され得ることが理解されるべきである。

【０４１２】

さらに、本明細書において明示的か又は黙示的かにかかわらず、本明細書に記載される組成物又は方法の要素及び／又は特徴が、本発明の趣旨及び範囲を逸脱せずに様々な方法で組み合わされ得ることが理解されるべきである。例えば、特定の化合物に言及される場合、その化合物は、文脈から他の意味に理解されない限り、本発明の組成物及び／又は本

発明の方法の様々な実施形態において使用され得る。言い換えると、本出願内で、実施形態は、明確且つ正確な出願が記載され、描かれるのを可能にするように記載され、示されているが、実施形態が、本明細書の教示及び本発明から逸脱せずに、様々に組み合わされるか又は分けられ得ることが意図され、理解されるであろう。例えば、本明細書に記載され、示される全ての特徴が、本明細書に記載され、示される本発明の全ての態様に適用可能であり得ることが理解されるであろう。

【０４１３】

本発明を説明する文脈における（特に、以下の特許請求の範囲の文脈における）単数形（「ａ」及び「ａｎ」及び「ｔｈｅ」）の用語及び同様の言及は、本明細書に特に示されない限り、又は文脈上明らかに矛盾しない限り、単数及び複数の両方を包含するものと解釈されるべきである。例えば、「細胞（ａ　ｃｅｌｌ）」という用語は、その混合物を含む、複数の細胞を含む。複数形が、化合物、塩などについて使用される場合、これは、単一の化合物、塩なども意味するものと解釈される。

【０４１４】

「の少なくとも１つ」という表現が、文脈及び使用から他の意味に理解されない限り、その表現の後に記載されるもののそれぞれ及び記載されるものの２つ以上の様々な組合せを個々に含むことが理解されるべきである。３つ以上の記載されるものに関連する「及び／又は」という表現は、文脈から他の意味に理解されない限り、同じ意味を有することが理解されるべきである。

【０４１５】

特に記載されない限り又は文脈から理解されない限り、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅｓ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」、「有する（ｈａｖｅ）」、「有する（ｈａｓ）」、「有する（ｈａｖｉｎｇ）」、「含有する（ｃｏｎｔａｉｎ）」、「含有する（ｃｏｎｔａｉｎｓ）」、又は「含有する（ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ）」という用語の使用は、その文法的等価語を含め、一般に、オープンエンドであり、非限定的であり、例えば、さらなる記載されていない要素又は工程を除外しないことが理解されるべきである。

【０４１６】

「約」という用語の使用が、定量値の前にある場合、本発明は、特に具体的に記載されない限り、その特定の定量的値自体も含む。本明細書で使用される場合、「約」という用語は、特に示されないか又は推測されない限り、公称値からの±１０％の変動を指す。

【０４１７】

工程の順序又は特定の行為を行う順序は、本発明が依然として操作可能である限り、重要でないと理解されるべきである。さらに、２つ以上の工程又は行為は、同時に行われてもよい。

【０４１８】

本明細書におけるあらゆる例、又は例示的用語、例えば、「など（ｓｕｃｈ　ａｓ）」又は「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」の使用は、本発明をさらに例示することが意図されるに過ぎず、主張されない限り、本発明の範囲を限定しない。本明細書におけるいかなる用語も、いずれかの特許請求されていない要素が、本発明の実施に必須であると示すものと解釈されるべきではない。

【０４１９】

本発明は、本発明の趣旨又は本質的特徴から逸脱せずに、他の特定の形態で実施され得る。したがって、上記の実施形態は、あらゆる点で、本明細書に記載される本発明を限定するものではなく例示するものと見なされるべきである。したがって、本発明の範囲は、上記の明細書ではなく添付の特許請求の範囲によって示され、特許請求の範囲の均等物の意味及び範囲内にある全ての変形が、その中に含まれることが意図される。

【図面】

【図１Ａ】

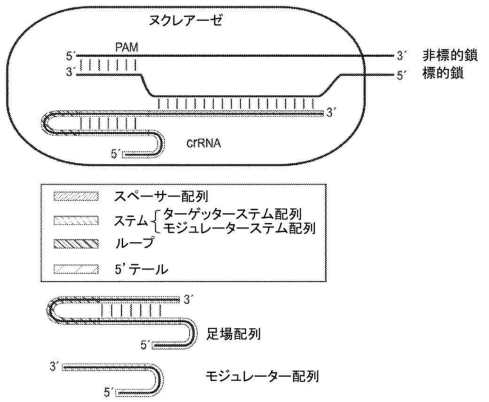


図1A

【図１Ｂ】

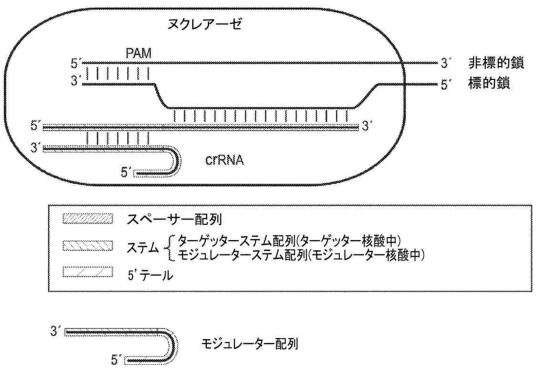


図1B

【図２Ａ】

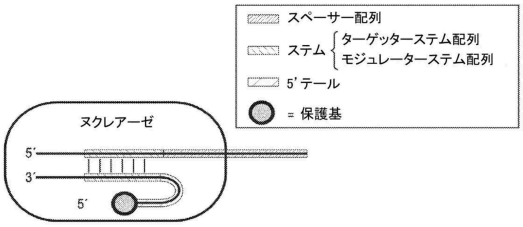


図2A

【図２Ｂ】

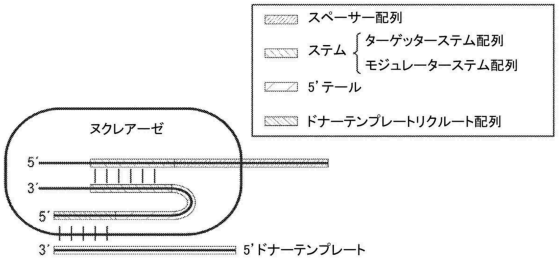


図2B

【図２Ｃ】

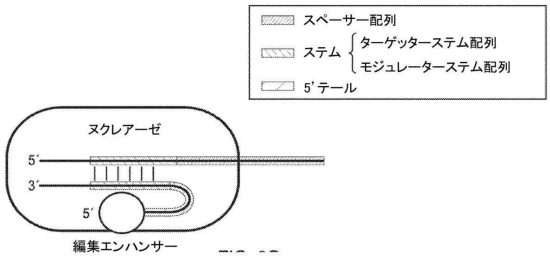


図2C

【図３】

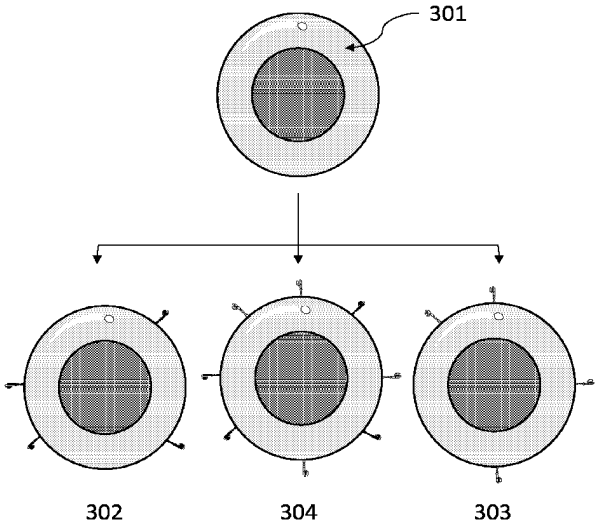


Figure 3

【図４】

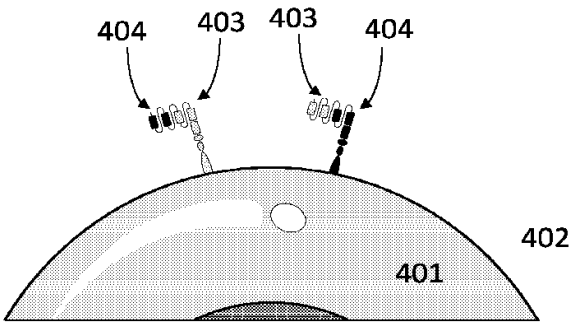


Figure 4

【図５】

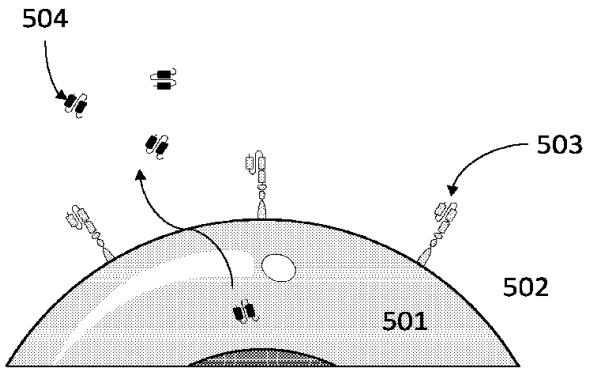


Figure 5

【図６】

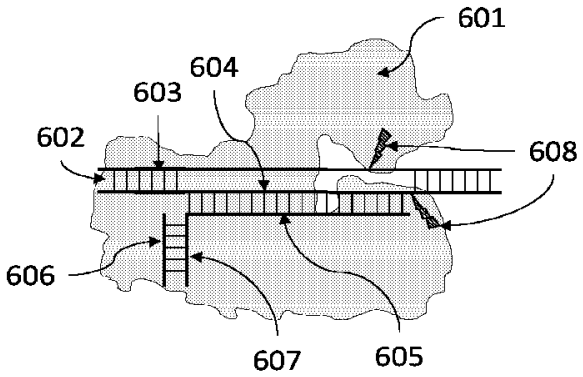
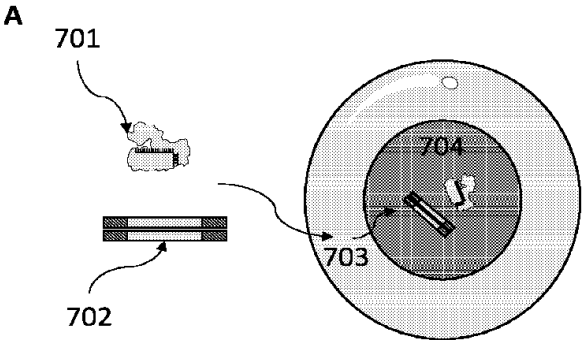
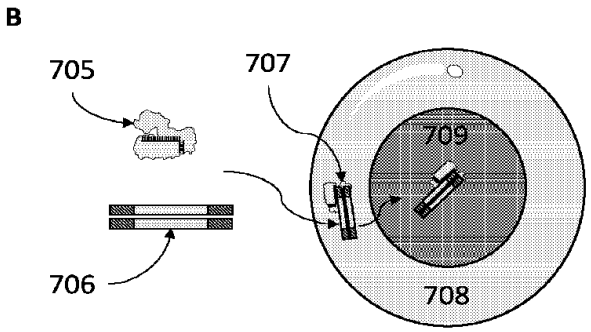


Figure 6

【図７Ａ】



【図７Ｂ】



【図８Ａ】

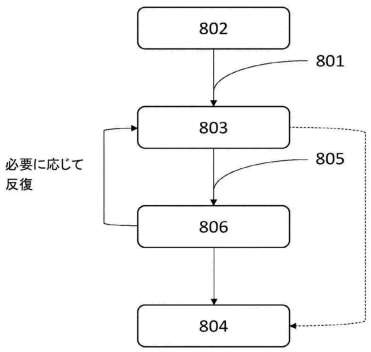


図8A

【図８Ｂ】

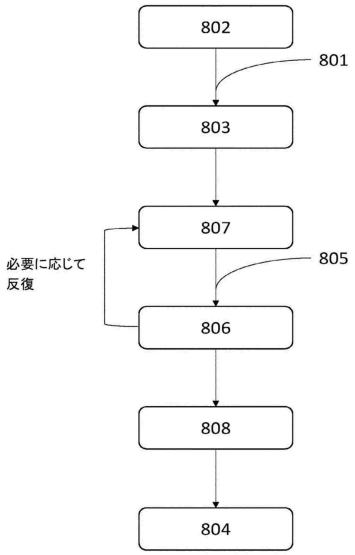


図8B

【図９】

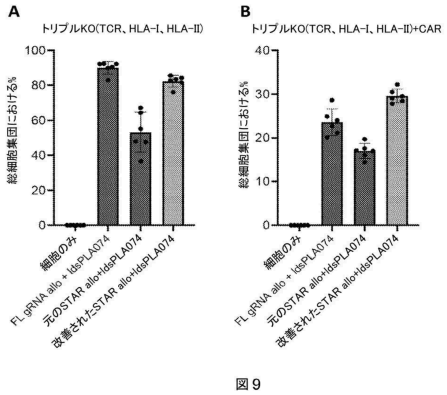


図9

【配列表】

20255185520000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/022439

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - INV. - C07K 14/705; C12N 15/11, 15/62, 5/071, 5/0783, 9/22 (2023.01)
ADD. - C12N 15/85 (2023.01)

CPC - INV. - C07K 14/70575, 14/70503; C12N 15/11, 15/62, 5/0636, 5/0696, 9/22 (2023.08)
ADD. - C12N 15/85, 2310/20, 2510/00 (2023.08)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GENPEPT, Chain B VHH L-P2-D07, NCBI, Accession: 6H16_B, 01 December 2020, Pgs. 1-2, [retrieved 24 October 2023]. Retrieved from the Internet <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/6H16_B?report=genbank&log$=prottop&blast_rank=1&RID=KFVVW9VX013>. entire document	1, 2
A	WO 2022/086846 A2 (CARIBOU BIOSCIENCES INC.) 28 April 2022 (28.04.2022) entire document	1-7
A	WO 2019/096874 A1 (NOVO NORDISK A/S) 23 May 2019 (23.05.2019) entire document	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
25 October 2023	DEC 08 2023
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Taina Matos Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/022439

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☐ forming part of the international application as filed.

   b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),

      ☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/022439

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 8, 9, 18-66, 71-110, 114, 119-125, 129-144
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet(s).

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-7

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/022439

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-7 are drawn to polypeptides

Group II+: claims 10-17 and 67-70 are drawn to polynucleotides and cells.

Group III: claims 111-113 are drawn to compositions comprising a plurality of cell populations.

Group IV: claims 115-118 and 126-128 are drawn to compositions comprising Type V nucleic acid guided nucleases, guide nucleic acids, and donor templates.

The first invention of Group I+ is restricted to a polypeptide encoding SEQ ID NO: 86. The first named invention has been selected based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines. Specifically, the first named invention was selected based on the first listed element for each of the variables presented in the claims (polypeptide – claim 1). It is believed that claims 1-7 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on SEQ ID NO: 86.

The first invention of Group II+ is restricted to polynucleotides with a first CAR portion binding partner of B7H3 and a second CAR portion binding partner of BCMA.

Applicant is invited to elect additional immunogenic peptides and their respective, corresponding, SEQ ID NOs to be searched in a specific combination by paying additional fee for each set of election. An exemplary election would be a polypeptide encoding SEQ ID NO: 87. Additional polypeptides and their respective, corresponding, SEQ ID NOs will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ and II+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ and II+ formulas do not share a significant structural element responsible for polypeptides and polynucleotide portions requiring the selection of alternative polypeptide sequences and first and second CAR binding partners where "A polypeptide that is at least 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, or 100% identical to any one of SEQ ID NOs: 86-124 or 2044-2070" and "wherein the first CAR or portion thereof binds to a binding partner comprising B7H3, BCMA, GPRC5D, CD8, CD8a, CD19, 6 CD20, CD22, CD28, 4-1BB, or CD3zeta or portion thereof" and "wherein the second CAR or portion thereof binds to a binding partner comprising B7H3, BCMA, GPRC5D, CD8, CD8a, CD19, CD20, CD22, CD28, 4-1BB, or CD3zeta or portion thereof, different from the binding partner of the first CAR or portion thereof."

The special technical features of Groups I+, SEQ ID NO: 86, are not present in Groups II+, III, or IV; the special technical features of Groups II+, polynucleotides and cells, are not present in Groups I+, III, or IV; the special technical features of Group III, compositions comprising a plurality of cell populations, are not present is Groups I+, II+, or IV; the special technical features of Groups IV, compositions comprising Type V nucleic acid guided nucleases, guide nucleic acids, and donor templates, are not present in Groups I+, II+ or III.

Additionally, even if Groups I+, II+, III, and IV were considered to share the technical features of a polypeptide that is at least 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, or 100% identical to a sequence; a polynucleotide comprising a first portion comprising a first sequence encoding a first polypeptide, wherein the first polypeptide comprises a first chimeric antigen receptor (CAR) or portion thereof; a cell comprising: a first polynucleotide comprising a first portion comprising a first sequence encoding a first polypeptide comprising a first CAR or portion thereof; a composition comprising: a Type V nucleic acid guided nuclease; a guide nucleic acid (gNA); and a first a donor template comprising a polynucleotide encoding a polypeptide comprising a CAR or portion thereof. However, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

WO 2022/086846 to Caribou Biosciences, Inc. (hereinafter, "Caribou") teaches a polypeptide that is at least 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, or 100% identical to a sequence (a CAR capable of binding to an antigen may be a polypeptide; Para. [00417]; wherein polypeptide comprise a sequence); a polynucleotide comprising a first portion comprising a first sequence encoding a first polypeptide, wherein the first polypeptide comprises a first chimeric antigen receptor (CAR) or portion thereof (a donor polynucleotide comprising a CAR expression vector encoding a CAR; Paras. [0066], [0072], [0077]); a cell (introducing the CAR expression vector into a cell; Para. [0073]) comprising: a first polynucleotide comprising a first portion comprising a first sequence encoding a first polypeptide comprising a first CAR or portion thereof (a donor polynucleotide comprising a CAR expression vector encoding a CAR...the CAR capable of binding to an antigen may be a polypeptide; Paras. [0066], [0072], [0077], [00417]); a composition comprising: a Type V nucleic acid guided nuclease (a composition comprising a guide molecule and a Cas12 protein...Cas12a is a Type V CRISPR-Cas protein; Paras. [0011], [0049]); a guide nucleic acid (gNA) (a guide molecule...comprising ribonucleotide bases; Paras. [0014], [0049]); and a first a donor template comprising a polynucleotide encoding a polypeptide comprising a CAR or portion thereof (a donor polynucleotide comprising a CAR expression vector encoding a CAR; Paras. [0066], [0072], [0077]).

The inventions listed in Groups I+, II+, III, and IV therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C07K	*14/705(2006.01)*	C07K	14/705		
C07K	*16/18 (2006.01)*	C07K	16/18		
C12N	*1/15 (2006.01)*	C12N	1/15		
C12N	*1/19 (2006.01)*	C12N	1/19		
C12N	*1/21 (2006.01)*	C12N	1/21		
C12N	*5/10 (2006.01)*	C12N	5/10		
C12N	*15/55 (2006.01)*	C12N	15/55		
C12N	*15/11 (2006.01)*	C12N	15/11	Z	
C12N	*5/0783(2010.01)*	C12N	5/0783		
C12N	*5/0735(2010.01)*	C12N	5/0735		
C12N	*5/078(2010.01)*	C12N	5/078		
C12N	*5/071(2010.01)*	C12N	5/071		
C12N	*9/22 (2006.01)*	C12N	9/22		
C12N	*15/09 (2006.01)*	C12N	15/09	１００	

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＷＥＥＮ

２．プルロニック

３．ＴＲＩＴＯＮ

(72)発明者　ローランド・バウムガートナー
アメリカ合衆国・コロラド・８０３０１・ボールダー・ウォーターストーン・ドライブ・５３８８
(72)発明者　ジョン・シール
アメリカ合衆国・コロラド・８０３０１・ボールダー・ウォーターストーン・ドライブ・５３８８
(72)発明者　ニコラス・エイオン・ティミンズ
アメリカ合衆国・コロラド・８０３０１・ボールダー・ウォーターストーン・ドライブ・５３８８

Ｆターム（参考）　4B065　AA01X AA57X AA72X AA87X AA93Y AB01 AC14 BA03 CA24 CA25 CA31 CA44
4H045　AA10 AA11 AA30 BA10 BA41 CA40 DA50 DA76 EA20 FA74