



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0032038
(43) 공개일자 2024년03월08일

- | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C12N 15/86 (2006.01) A61K 48/00 (2006.01) A61P 21/04 (2006.01) C07K 14/47 (2006.01) C12N 15/10 (2017.01) C12N 15/113 (2010.01) C12N 9/10 (2006.01) C12N 9/22 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류 C12N 15/86 (2013.01) A61K 48/005 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2024-7001784 (22) 출원일자(국제) 2022년06월16일 심사청구일자 없음 (85) 번역문제출일자 2024년01월16일 (86) 국제출원번호 PCT/US2022/033797 (87) 국제공개번호 WO 2022/266324 국제공개일자 2022년12월22일</p> <p>(30) 우선권주장 63/211,791 2021년06월17일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인 에피크리스피알 바이오테크놀로지스, 인크. 미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어라인 코트 7000 스위트 100</p> <p>(72) 발명자 콜린 드 로테 알렉산드라 실비에 미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어라인 코트 7000 스위트 100 소아 로즈마리 웬팅 미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어라인 코트 7000 스위트 100 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인 김진희, 김태홍</p> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

전체 청구항 수 : 총 115 항

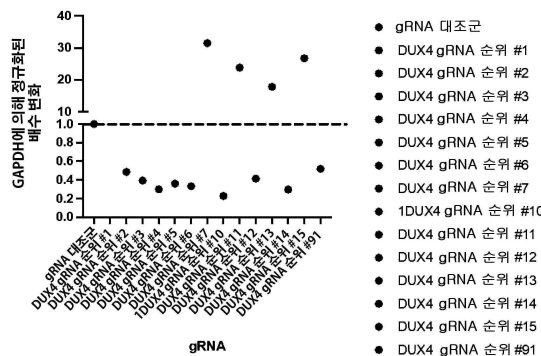
(54) 발명의 명칭 **비정상적인 유전자 발현을 조절하기 위한 시스템 및 방법**

(57) 요약

본 개시내용은 대상체의 질병 또는 병태(예를 들어, 근이영양증, 예컨대 안면건감상완 근이영양증(FSHD))을 치료하거나 개선하기 위해, 세포(예를 들어, 근육 세포)에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하기 위한 시스템, 조성물, 방법을 제공한다.

대표도

dCas9KAL에 의한 DUX4 억제



(52) CPC특허분류

A61P 21/04 (2018.01)
C07K 14/4707 (2013.01)
C12N 15/102 (2013.01)
C12N 15/113 (2013.01)
C12N 9/1007 (2013.01)
C12N 9/22 (2013.01)
C12N 2310/20 (2017.05)
C12N 2750/14143 (2013.01)

(72) 발명자

아드히카리 아브히나브

미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어 라인 코트 7000 스위트 100

보어코우다 싯다라주

미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어 라인 코트 7000 스위트 100

할트 다니엘 오

미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어 라인 코트 7000 스위트 100

게이너스 토마스 블레이어

미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어 라인 코트 7000 스위트 100

카로쑈 지오반니

미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어 라인 코트 7000 스위트 100

양 시아오

미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어 라인 코트 7000 스위트 100

데일리 티모시

미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어 라인 코트 7000 스위트 100

루영 타오 응우옌 부

미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어 라인 코트 7000 스위트 100

리우 양시아

미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어 라인 코트 7000 스위트 100

코 텡유

미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어 라인 코트 7000 스위트 100

셀즈맨 엠버 루스

미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 쇼어 라인 코트 7000 스위트 100

명세서

청구범위

청구항 1

근육 세포에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하기 위한 시스템으로서,

뉴클레아제를 포함하는 이중 폴리펩티드로서, 뉴클레아제는 약 900개 이하의 아미노산 길이를 갖는 것인 이중 폴리펩티드; 및

상기 이중 폴리펩티드와 복합체를 형성하도록 구성된 가이드 핵산 분자로서, 가이드 핵산 분자는, 근육 세포의 D4Z4 반복 배열에 또는 이에 인접한 표적 폴리뉴클레오티드 서열에 대한 특이적 결합을 나타내는 것인 가이드 핵산 분자

를 포함하며, 복합체 형성 시, 복합체는 표적 폴리뉴클레오티드 서열에 결합하여, 근육 세포에서 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형을 가져올 수 있고, 표적 유전자는 D4Z4 반복 배열 내에 존재하는 것인 시스템.

청구항 2

제1항에 있어서, 복합체 형성 시, 근육 세포에서 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 적어도 약 2일 동안 지속되는 시스템.

청구항 3

제2항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 적어도 약 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 2주, 4주, 또는 2개월 동안 지속되는 시스템.

청구항 4

제2항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 적어도 약 17일 동안 지속되는 시스템.

청구항 5

제2항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 적어도 약 18일 동안 지속되는 시스템.

청구항 6

제1항에 있어서, 근육 세포가 안면견갑상완 근이영양증(FSHD)을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체의 것인 시스템.

청구항 7

제1항에 있어서, 표적 유전자가 Dux4인 시스템.

청구항 8

제1항에 있어서, 뉴클레아제가 약 800개 이하의 아미노산 길이를 갖는 것인 시스템.

청구항 9

제1항에 있어서, 뉴클레아제가 약 750개 이하의 아미노산 길이를 갖는 것인 시스템.

청구항 10

제1항에 있어서, 뉴클레아제가 Un1Cas12f1 또는 이의 변형된 변이체인 시스템.

청구항 11

제1항에 있어서, 뉴클레아제가 서열번호: 43의 폴리펩티드 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 시스템.

청구항 12

제1항에 있어서, 뉴클레아제가 서열번호: 44의 폴리펩티드 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 시스템.

청구항 13

제1항에 있어서, 이중 폴리펩티드가 전사 조절인자를 더 포함하는 것인 시스템.

청구항 14

제13항에 있어서, 전사 조절인자가 적어도 하나의 메틸트랜스퍼라제를 포함하는 것인 시스템.

청구항 15

제14항에 있어서, 전사 조절인자가 적어도 하나의 DNA 메틸트랜스퍼라제(DNMT)를 포함하는 것인 시스템.

청구항 16

제15항에 있어서, 전사 조절인자가 DNMT-A 또는 DNMT-L을 포함하는 것인 시스템.

청구항 17

제14항에 있어서, 전사 조절인자가 (i) DNMT-A 또는 DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 시스템.

청구항 18

제14항에 있어서, 전사 조절인자가 (i) DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 시스템.

청구항 19

제14항에 있어서, 전사 조절인자가 DNMT-A, DNMT-L, 및 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 시스템.

청구항 20

제13항에 있어서, 전사 조절인자가 DNMT-L 또는 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 시스템.

청구항 21

제13항에 있어서, 전사 조절인자가 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 시스템.

청구항 22

제13항에 있어서, 전사 조절인자가 복수의 상이한 전사 조절인자를 포함하는 것인 시스템.

청구항 23

제1항에 있어서, 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형이 표적 유전자의 하류 유전자의 하향조절을 가져오고, 여기서 하류 유전자는 ZSCAN4, LEUTX, MBD3L2, TRIM48, 및 TRIM43으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 멤버를 포함하는 것인 시스템.

청구항 24

제1항에 있어서, 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형이 근육 세포에서 세포사멸 마커의 하향조절을 가져오는 시스템.

청구항 25

제24항에 있어서, 세포사멸 마커가 카스파제 3을 포함하는 것인 시스템.

청구항 26

제1항에 있어서, 복합체가 근육 유전자에서의 표적 유전자의 발현 수준의 변형을 가져오는 시스템.

청구항 27

제26항에 있어서, 발현 수준의 변형이 표적 유전자의 하향조절을 일으키는 시스템.

청구항 28

제1항에 있어서, 복합체가 근육 유전자에서의 표적 유전자의 메틸화 수준의 변형을 가져오는 시스템.

청구항 29

제28항에 있어서, 메틸화 수준의 변형이 표적 유전자의 하향조절을 일으키는 시스템.

청구항 30

제1항에 있어서, 뉴클레아제가 불활성화된 뉴클레아제인 시스템.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항의 시스템을 포함하는 조성물.

청구항 32

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항의 시스템을 포함하는 바이러스 벡터.

청구항 33

제32항에 있어서, 바이러스 벡터가 아데노 관련 바이러스(AAV), 레트로바이러스, 렌티바이러스, 폭스바이러스, 또는 아데노바이러스를 포함하는 바이러스 벡터.

청구항 34

제33항에 있어서, AAV가 AAV 혈청형 RH74 AAV를 포함하는 것인 바이러스 벡터.

청구항 35

근육 세포에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하는 방법으로서,

(a) 근육 세포를, (i) 뉴클레아제를 포함하는 이중 폴리펩티드로서, 뉴클레아제는 약 900개 이하의 아미노산 길이를 갖는 것인 이중 폴리펩티드 및 (ii) 근육 세포의 D4Z4 반복 배열에 또는 이에 인접한 표적 폴리뉴클레오티드 서열에 대한 특이적 결합을 나타내는 가이드 핵산 분자를 포함하는 복합체와 접촉시키는 단계; 및

(b) 접촉 시, 표적 유전자가 복합체와 결합하여 근육 세포에서 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형을 가져오는 단계로서, 표적 유전자는 D4Z4 반복 배열 내에 있는 것인 단계를 포함하는, 근육 세포에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하는 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 복합체 형성 시, 근육 세포에서 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 적어도 약 2일 동안 지속되는 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 적어도 약 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 2주, 4주, 또는 2개월 동안 지속되는 방법.

청구항 38

제36항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 적어도 약 17일 동안 지속되는 방법.

청구항 39

제36항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 적어도 약 18일 동안 지속되는 방법.

청구항 40

제35항에 있어서, 접촉시키는 단계가 복합체를 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 주입하는 단계를 포함하고, 대상체는 안면건갑상완 근이영양증(FSHD)을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 것인 방법.

청구항 41

제35항에 있어서, 표적 유전자가 Dux4인 방법.

청구항 42

제35항에 있어서, 뉴클레아제가 약 800개 이하의 아미노산 길이를 갖는 것인 방법.

청구항 43

제35항에 있어서, 뉴클레아제가 약 750개 이하의 아미노산 길이를 갖는 것인 방법.

청구항 44

제35항에 있어서, 뉴클레아제가 Un1Cas12f1 또는 이의 변형된 변이체인 방법.

청구항 45

제35항에 있어서, 뉴클레아제가 서열번호: 43의 폴리펩티드 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 46

제35항에 있어서, 뉴클레아제가 서열번호: 44의 폴리펩티드 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 47

제35항에 있어서, 이중 폴리펩티드가 전사 조절인자를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 48

제47항에 있어서, 전사 조절인자가 적어도 하나의 메틸트랜스퍼라제를 포함하는 것인 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 전사 조절인자가 적어도 하나의 DNA 메틸트랜스퍼라제(DNMT)를 포함하는 것인 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 전사 조절인자가 DNMT-A 또는 DNMT-L을 포함하는 것인 방법.

청구항 51

제49항에 있어서, 전사 조절인자가 (i) DNMT-A 또는 DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 방법.

청구항 52

제49항에 있어서, 전사 조절인자가 (i) DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 방법.

청구항 53

제49항에 있어서, 전사 조절인자가 DNMT-A, DNMT-L, 및 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 방법.

청구항 54

제47항에 있어서, 전사 조절인자가 DNMT-L 또는 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 방법.

청구항 55

제47항에 있어서, 전사 조절인자가 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 방법.

청구항 56

제47항에 있어서, 전사 조절인자가 복수의 상이한 전사 조절인자를 포함하는 것인 방법.

청구항 57

제35항에 있어서, 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형이 표적 유전자의 하류 유전자의 하향조절을 가져오고, 여기서 하류 유전자는 ZSCAN4, LEUTX, MBD3L2, TRIM48, 및 TRIM43으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 멤버를 포함하는 것인 방법.

청구항 58

제35항에 있어서, 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형이 근육 세포에서 세포사멸 마커의 하향조절을 가져오는 것인 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 세포사멸 마커가 카스파제 3을 포함하는 것인 방법.

청구항 60

제35항에 있어서, 복합체가 근육 유전자에서의 표적 유전자의 발현 수준의 변형을 가져오는 방법.

청구항 61

제35항에 있어서, 발현 수준의 변형이 표적 유전자의 하향조절을 일으키는 방법.

청구항 62

제35항에 있어서, 복합체가 근육 유전자에서의 표적 유전자의 메틸화 수준의 변형을 가져오는 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 메틸화 수준의 변형이 표적 유전자의 하향조절을 일으키는 방법.

청구항 64

제35항에 있어서, 뉴클레아제가 불활성화된 뉴클레아제인 방법.

청구항 65

근육 세포에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하기 위한 시스템으로서,

유전자 조절인자에 결합된 이중 액추에이터 모이어티로서, 이중 액추에이터 모이어티는 근육 세포 내의 표적 유전자와 복합체를 형성할 수 있고, 유전자 조절인자는 근육 세포에서 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준을 변형시킬 수 있는 것인 이중 액추에이터 모이어티

를 포함하고, 복합체 형성 시, 근육 세포에서 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 적어도 약 2일 동안 지속되는 것인 시스템.

청구항 66

제65항에 있어서, 표적 유전자의 지속적인 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%를 유지하는 것을 특징으로 하는 시스템.

청구항 67

제1항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 적어도 약 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주, 4주, 또는 2개월 동안 지속되는 시스템.

청구항 68

제1항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준이 표적 유전자의 감소된 발현 수준인 시스템.

청구항 69

제1항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 메틸화 수준이 표적 유전자의 증가된 메틸화 정도인 시스템.

청구항 70

제1항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조절인자가 후성적 조절인자를 포함하는 것인 시스템.

청구항 71

제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 염색질 변형인자를 포함하는 것인 시스템.

청구항 72

제1항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 적어도 하나의 메틸트랜스퍼라제를 포함하는 것인 시스템.

청구항 73

제1항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 적어도 하나의 DNA 메틸트랜스퍼라제(DNMT)를 포함하는 것인 시스템.

청구항 74

제1항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 DNMT-A 또는 DNMT-L을 포함하는 것인 시스템.

청구항 75

제1항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 (i) DNMT-A 또는 DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 시스템.

청구항 76

제1항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 DNMT-A, DNMT-L, 및 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 시스템.

청구항 77

제1항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 시스템.

청구항 78

제1항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조절인자가 복수의 상이한 유전자 조절인자를 포함하는 것인 시스템.

청구항 79

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 액추에이터 모이어티를 표적 유전자로 지시하여 복합체를 형성할 수 있는 가이드 핵산 분자를 더 포함하는 시스템.

청구항 80

제1항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 액추에이터 모이어티가 근육 조절 유전자의 제1 부분과 복합체를 형성할 수 있고, 시스템은 추가 유전자 조절인자에 결합된 추가의 이중 액추에이터 모이어티를 더 포함하며, 추가의 이중 액추에이터 모이어티는 근육 조절 유전자의 제2 부분과 복합체를 형성할 수 있는 것인 시스템.

청구항 81

제1항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 추가의 이중 액추에이터 모이어티를 근육 조절 유전자의 제2 부분으로 지시할 수 있는 추가의 가이드 핵산 분자를 더 포함하는 시스템.

청구항 82

제1항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자가 전사 인자인 시스템.

청구항 83

제1항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자가 D4Z4 반복 배열 내에 있는 것인 시스템.

청구항 84

제1항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자가 DUX4를 코딩하는 것인 시스템.

청구항 85

제1항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자가 C9orf72가 아닌 시스템.

청구항 86

제1항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 근육 세포가 골격근세포인 시스템.

청구항 87

제1항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 액추에이터 모이어티 또는 추가의 이중 액추에이터 모이어티가 엔도뉴클레아제를 포함하는 것인 시스템.

청구항 88

제1항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 액추에이터 모이어티 또는 추가의 이중 액추에이터 모이어티가 CRISPR-Cas 단백질을 포함하는 것인 시스템.

청구항 89

제1항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 액추에이터 모이어티 또는 추가의 이중 액추에이터 모이어티가 dCas 단백질을 포함하는 것인 시스템.

청구항 90

제1항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 가이드 핵산 분자 또는 추가의 가이드 핵산 분자가 가이드 RNA 분자를 포함하는 것인 시스템.

청구항 91

근육 세포에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하는 방법으로서,

(a) 근육 세포를, 유전자 조절인자와 결합된 이중 액추에이터 모이어티와 접촉시키는 단계로서, 이중 액추에이터 모이어티는 근육 세포 내의 표적 유전자와 복합체를 형성할 수 있고, 유전자 조절인자는 근육 세포에서 표적

유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준을 변형시킬 수 있는 것인 단계; 및

(b) 복합체 형성 시, 근육 세포에서 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준을 적어도 약 2일 동안 유지하는 단계

를 포함하는, 근육 세포에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하는 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, 표적 유전자의 지속적인 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 100%를 유지하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 93

제1항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 적어도 약 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주, 4주, 또는 2개월 동안 지속되는 방법.

청구항 94

제1항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준이 표적 유전자의 감소된 발현 수준인 방법.

청구항 95

제1항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자의 변형된 메틸화 수준이 표적 유전자의 증가된 메틸화 정도인 방법.

청구항 96

제1항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조절인자가 후성적 조절인자를 포함하는 것인 방법.

청구항 97

제1항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 염색질 변형인자를 포함하는 것인 방법.

청구항 98

제1항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 적어도 하나의 메틸트랜스퍼라제를 포함하는 것인 방법.

청구항 99

제1항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 적어도 하나의 DNA 메틸트랜스퍼라제(DNMT)를 포함하는 것인 방법.

청구항 100

제1항 내지 제99항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 DNMT-A 또는 DNMT-L을 포함하는 것인 방법.

청구항 101

제1항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 (i) DNMT-A 또는 DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 방법.

청구항 102

제1항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 DNMT-A, DNMT-L, 및 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 방법.

청구항 103

제1항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 후성적 조절인자가 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함하는 것인 방법.

제1항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조절인자가 복수의 상이한 유전자 조절인자를 포함하는 것인 방법.

청구항 104

제1항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서, 근육 세포를 이중 액추에이터 모이어티를 표적 유전자로 지시할 수 있는 가이드 핵산 분자와 접촉시켜 복합체를 형성하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 105

제1항 내지 제104항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 액추에이터 모이어티가 근육 조절 유전자의 제1 부분과 복합체를 형성할 수 있고, 방법이 근육 세포를 추가의 유전자 조절인자에 결합된 추가의 이중 액추에이터 모이어티와 접촉시키는 단계를 더 포함하며, 추가의 이중 액추에이터 모이어티는 근육 조절 유전자의 제2 부분과 복합체를 형성할 수 있는 것인 방법.

청구항 106

제1항 내지 제105항 중 어느 한 항에 있어서, 추가의 이중 액추에이터 모이어티를 근육 조절 유전자의 제2 부분으로 지시할 수 있는 추가의 가이드 핵산 분자와 근육 세포를 접촉시키는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 107

제1항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자가 전사 인자인 방법.

청구항 108

제1항 내지 제107항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자가 D4Z4 반복 배열 내에 있는 것인 방법.

청구항 109

제1항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자가 DUX4를 코딩하는 것인 방법.

청구항 110

제1항 내지 제109항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 유전자가 C9orf72가 아닌 방법.

청구항 111

제1항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서, 근육 세포가 골격근세포인 방법.

청구항 112

제1항 내지 제111항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 액추에이터 모이어티 또는 추가의 이중 액추에이터 모이어티가 엔도뉴클레아제를 포함하는 것인 방법.

청구항 113

제1항 내지 제112항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 액추에이터 모이어티 또는 추가의 이중 액추에이터 모이어티가 CRISPR-Cas 단백질을 포함하는 것인 방법.

청구항 114

제1항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 액추에이터 모이어티 또는 추가의 이중 액추에이터 모이어티가 dCas 단백질을 포함하는 것인 방법.

청구항 115

제1항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서, 가이드 핵산 분자 또는 추가의 가이드 핵산 분자가 가이드 RNA 분

자를 포함하는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

배경 기술

[0001]

상호 참조

[0002]

본원은 2021년 6월 17일에 출원된 미국 가출원 번호 제63/211,791호의 이익을 주장하며, 이는 그 전체 내용이 참조로 본원에 포함된다.

[0003]

배경 기술

[0004]

하나 이상의 유전자의 비정상적인 발현은 질병 또는 병태를 유발할 수 있다. 어떤 경우에, 근육 세포에서 배아 전사 인자의 비정상적인 발현이 대상체에서 근이영양증을 유발할 수 있다. 예를 들어, 근육 세포에서 전사 인자의 비정상적인 발현(예: 골격근세포에서 DUX4의 비정상적인 발현)은 안면견갑상완 근이영양증(FSHD)을 유발할 수 있다.

발명의 내용

[0005]

요약

[0006]

세포 내 표적 유전자의 비정상적 발현을 일시적으로 변형하는 것은 표적 유전자의 비정상적 발현에 의해 나타나는 질병을 치료하거나 완치하는 데 충분하지 않을 수 있다. 따라서, 표적 유전자의 비정상적 발현을 변형시키고 표적 유전자의 변형된 발현 수준을 장기간 동안 유지하기 위한 시스템 및 방법에 대한 실질적인 필요성이 여전히 남아있다.

[0007]

하나의 양태로, 본 개시내용은 근육 세포에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하기 위한 시스템으로, 다음: 뉴클레아제를 포함하는 이중(성) 폴리펩티드로, 여기서 뉴클레아제는 약 900개 이하의 아미노산 길이를 갖는 것인 이중 폴리펩티드; 및 상기 이중 폴리펩티드와 복합체를 형성하도록 구성된 가이드 핵산 분자로, 가이드 핵산 분자는 근육 세포의 D4Z4 반복 배열에 또는 이에 인접한 표적 폴리뉴클레오티드 서열에 대한 특이적 결합을 나타내는 것인 가이드 핵산 분자를 포함하며, 복합체 형성 시, 복합체는 표적 폴리뉴클레오티드 서열에 결합하여, 근육 세포에서 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준을 변형을 가져올 수 있고, 여기서 표적 유전자는 D4Z4 반복 배열 내에 있는 것인 시스템을 제공한다.

[0008]

본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 복합체 형성 시, 근육 세포에서 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 적어도 약 2일 동안 지속된다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 적어도 약 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 4주, 또는 2개월 동안 지속된다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 적어도 약 17일 동안 지속된다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 적어도 약 18일 동안 지속된다.

[0009]

본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 근육 세포는 안면견갑상완근 이영양증(FSHD)을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심되는 대상체에 있다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 Dux4이다.

[0010]

본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 약 800개 이하의 아미노산 길이를 갖는다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 약 750개 이하의 아미노산 길이를 갖는다.

[0011]

본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 Un1Cas12f1 또는 이의 변형된 변이체이다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 서열번호: 43의 폴리펩티드 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 서열번호: 44의 폴리펩티드 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

- [0012] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 이중 폴리펩티드는 전사 조절인자를 더 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 적어도 하나의 메틸트랜스퍼라제를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 적어도 하나의 DNA 메틸트랜스퍼라제(DNMT)를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 DNMT-A 또는 DNMT-L을 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 (i) DNMT-A 또는 DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 (i) DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 DNMT-A, DNMT-L, 및 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 DNMT-L 또는 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 복수의 상이한 전사 조절인자를 포함한다.
- [0013] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형은 표적 유전자의 하류 유전자의 하향조절을 가져오며, 여기서 하류 유전자는 ZSCAN4, LEUTX, MBD3L2, TRIM48, 및 TRIM43으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 멤버를 포함한다.
- [0014] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형은 근육 세포에서 세포사멸 마커의 하향조절을 가져온다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 세포사멸 마커는 카스파제 3을 포함한다.
- [0015] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 상기 복합체는 근육 유전자에서 표적 유전자의 발현 수준의 변형을 가져온다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 발현 수준의 변형은 표적 유전자의 하향조절을 일으킨다.
- [0016] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 복합체는 근육 유전자에서 표적 유전자의 메틸화 수준의 변형을 가져온다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 메틸화 수준의 변형은 표적 유전자의 하향조절을 일으킨다.
- [0017] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 불활성화된 뉴클레아제이다.
- [0018] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 임의의 시스템을 포함하는 조성물을 제공한다.
- [0019] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 임의의 시스템 또는 임의의 조성물을 포함하는 바이러스 벡터를 제공한다.
- [0020] 본원에 개시된 임의의 바이러스 벡터의 일부 실시양태에서, 바이러스 벡터는 아데노 관련 바이러스(AAV), 레트로바이러스, 렌티바이러스, 폭스바이러스, 또는 아데노바이러스를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 바이러스 벡터의 일부 실시양태에서, AAV는 AAV 혈청형 RH74 AAV를 포함한다.
- [0021] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 근육세포에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하는 방법을 제공하며, 이 방법은 (a) 근육 세포를 (i) 뉴클레아제를 포함하는 이중 폴리펩티드로, 여기서 뉴클레아제는 약 900개 이하의 아미노산 길이를 갖는 것인 이중 폴리펩티드 및 (ii) 근육 세포의 D4Z4 반복 배열에서 또는 이에 인접한 표적 폴리뉴클레오티드 서열에 대한 특이적 결합을 나타내는 가이드 핵산 분자를 포함하는 복합체와 접촉시키는 단계; 및 (b) 접촉 시, 표적 유전자를 복합체와 결합시켜 근육 세포에서 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형을 가져오는 단계로, 여기서 표적 유전자는 D4Z4 반복 배열 내에 있는 것인 단계를 포함한다.
- [0022] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 복합체 형성 시, 근육 세포에서 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 적어도 약 2일 동안 지속된다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 적어도 약 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 4주, 또는 2개월 동안 지속된다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 적어도 약 17일 동안 지속된다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 적어도 약 18일 동안 지속된다.
- [0023] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 접촉은 복합체를 포함하는 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 주입하는 단계를 포함하며, 여기서 대상체는 안면견갑상완근이영양증(FSHD)을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 의심된다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 Dux4이다.

- [0024] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 약 800개 이하의 아미노산 길이를 갖는다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 약 750개 이하의 아미노산 길이를 갖는다.
- [0025] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 Un1Cas12f1 또는 이의 변형된 변이체이다.
- [0026] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 서열번호: 43의 폴리펩티드 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 서열번호: 44의 폴리펩티드 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0027] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 이중 폴리펩티드는 전사 조절인자를 더 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 적어도 하나의 메틸트랜스퍼라제를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 적어도 하나의 DNA 메틸트랜스퍼라제 (DNMT)를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 DNMT-A 또는 DNMT-L을 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 (i) DNMT-A 또는 DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 (i) DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 DNMT-A, DNMT-L, 및 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 DNMT-L 또는 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상기 전사 조절인자는 복수의 상이한 전사 조절인자를 포함한다.
- [0028] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형은 표적 유전자의 하류 유전자의 하향조절을 가져오며, 여기서 하류 유전자는 ZSCAN4, LEUTX, MBD3L2, TRIM48, 및 TRIM43으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 멤버를 포함한다.
- [0029] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형은 근육 세포에서 세포사멸 마커의 하향조절을 가져온다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 세포사멸 마커는 카스파제 3을 포함한다.
- [0030] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상기 복합체는 근육 유전자에서 표적 유전자의 발현 수준의 변형을 가져온다.
- [0031] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 발현 수준의 변형은 표적 유전자의 하향조절을 일으킨다.
- [0032] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 복합체는 근육 유전자에서 표적 유전자의 메틸화 수준의 변형을 가져온다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 메틸화 수준의 변형은 표적 유전자의 하향조절을 일으킨다.
- [0033] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 불활성화된 뉴클레아제이다.
- [0034] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 근육 세포에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하기 위한 시스템을 제공하며, 이 시스템은 유전자 조절인자에 결합된 이중 액추에이터 모이어터를 포함하며, 여기서 이중 액추에이터 모이어터는 근육 세포 내의 표적 유전자와 복합체를 형성하고, 유전자 조절인자는 근육 세포에서 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형을 가져올 수 있으며, 복합체 형성 시 근육 세포에서 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준이 적어도 약 2일 동안 지속된다.
- [0035] 본원에 개시된 임의의 시스템 중 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 지속적인 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 100%를 유지하는 것을 특징으로 한다.
- [0036] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 적어도 약 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주, 4주, 또는 2개월 동안 지속된다.
- [0037] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준은 표적 유전자의 감소된 발현 수준이다.
- [0038] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 메틸화 수준은 표적 유전자의 메틸화

의 증가된 정도이다.

- [0039] 본원에 개시된 임의의 시스템 중 일부 실시양태에서, 유전자 조절인자는 후성적 조절인자를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 염색질 변형인자를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 적어도 하나의 메틸트랜스퍼라제를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 적어도 하나의 DNA 메틸트랜스퍼라제(DNMT)를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 DNMT-A 또는 DNMT-L을 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 (i) DNMT-A 또는 DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 DNMT-A, DNMT-L, 및 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 KRAB 또는 KRAB의 변이체로 구성된다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 복수의 상이한 유전자 조절인자를 포함한다.
- [0040] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 시스템은 이중 액추에이터 모이어티를 표적 유전자로 지시하여 복합체를 형성할 수 있는 가이드 핵산 분자를 더 포함한다.
- [0041] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 이중 액추에이터 모이어티는 근육 조절 유전자의 제1 부분과 복합체를 형성할 수 있고, 시스템은 추가의 이중 액추에이터 모이어티에 결합된 추가의 이중 액추에이터 모이어티를 더 포함하며, 여기서 추가의 이중 액추에이터 모이어티는 근육 조절 유전자의 제2 부분과 복합체를 형성할 수 있다.
- [0042] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 시스템은 추가의 이중 액추에이터 모이어티를 근육 조절 유전자의 제2 부분으로 지시할 수 있는 추가의 가이드 핵산 분자를 더 포함한다.
- [0043] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 전사 인자이다.
- [0044] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 D4Z4 반복 배열 내에 있다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 DUX4를 코딩한다.
- [0045] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 C9orf72가 아니다.
- [0046] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 근육 세포는 골격근세포이다.
- [0047] 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 이중 활성화인자 모이어티 또는 추가의 이중 활성화인자 모이어티는 엔도뉴클레아제를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 이중 활성화인자 모이어티 또는 추가의 이중 활성화인자 모이어티는 CRISPR-Cas 단백질을 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 이중 활성화인자 모이어티 또는 추가의 이중 활성화인자 모이어티는 dCas 단백질을 포함한다. 본원에 개시된 임의의 시스템의 일부 실시양태에서, 가이드 핵산 분자 또는 추가의 가이드 핵산 분자는 가이드 RNA 분자를 포함한다.
- [0048] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 근육 세포에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하는 방법을 제공하며, 이 방법은 다음: (a) 근육 세포를 유전자 조절인자에 결합된 이중 액추에이터 모이어티와 접촉시키는 단계로, 여기서 이중 액추에이터 모이어티는 근육 세포 내의 표적 유전자와 복합체를 형성할 수 있고, 유전자 조절인자는 근육 세포에서 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 변형을 가져올 수 있는 것인 단계; 및 (b) 복합체 형성 시, 적어도 약 2일 동안 근육 세포에서 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준을 지속시키는 단계를 포함한다.
- [0049] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 지속적인 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준을 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 100%를 유지하는 것을 특징으로 한다.
- [0050] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준은 적어도 약 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 2주, 3주, 4주, 또는 2개월 동안 지속된다.
- [0051] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 발현 수준은 표적 유전자의 감소된 발현 수준이다.
- [0052] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자의 변형된 메틸화 수준은 표적 유전자의 메틸화의 증가된 정도이다.

[0053] 본원에 개시된 임의의 방법 중 일부 실시양태에서, 유전자 조절인자는 후성적 조절인자를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 염색질 변형인자를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 적어도 하나의 메틸트랜스퍼라제를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 적어도 하나의 DNA 메틸트랜스퍼라제(DNMT)를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 DNMT-A 또는 DNMT-L을 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 (i) DNMT-A 또는 DNMT-L 및 (ii) KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 DNMT-A, DNMT-L, 및 KRAB 또는 KRAB의 변이체를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 KRAB 또는 KRAB의 변이체로 구성된다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 후성적 조절인자는 복수의 상이한 유전자 조절인자를 포함한다.

[0054] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 상기 방법은 근육 세포를, 이중 액추에이터 모이어티를 표적 유전자로 지시할 수 있는 가이드 핵산 분자와 접촉시켜 복합체를 형성하는 단계를 더 포함한다.

[0055] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 이중 액추에이터 모이어티는 근육 조절 유전자의 제1 부분과 복합체를 형성할 수 있고, 이 방법은 근육 세포를 추가의 이중 액추에이터 모이어티에 결합된 추가의 이중 액추에이터 모이어티와 접촉시키는 단계를 더 포함하며, 여기서 추가의 이중 액추에이터 모이어티는 근육 조절 유전자의 제2 부분과 복합체를 형성할 수 있다.

[0056] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 이 방법은 근육 세포를, 추가의 이중 액추에이터 모이어티를 근육 조절 유전자의 제2 부분으로 지시할 수 있는 추가의 가이드 핵산 분자와 접촉시키는 단계를 더 포함한다.

[0057] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 전사 인자이다.

[0058] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 D4Z4 반복 배열 내에 있다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 DUX4를 코딩한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 C9orf72가 아니다.

[0059] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 근육 세포는 골격근세포이다.

[0060] 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 이중 활성화인자 모이어티 또는 추가의 이중 활성화인자 모이어티는 엔도뉴클레아제를 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 이중 활성화인자 모이어티 또는 추가의 이중 활성화인자 모이어티는 CRISPR-Cas 단백질을 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 이중 활성화인자 모이어티 또는 추가의 이중 활성화인자 모이어티는 dCas 단백질을 포함한다. 본원에 개시된 임의의 방법의 일부 실시양태에서, 가이드 핵산 분자 또는 추가의 가이드 핵산 분자는 가이드 RNA 분자를 포함한다.

[0061] 본 개시내용의 추가적인 양태 및 장점은 본 개시내용의 예시적인 실시양태만이 도시되고 설명되는 다음의 상세한 설명으로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 쉽게 명백해질 것이다. 인식되는 바와 같이, 본 개시내용은 다른 상이한 실시양태가 가능하며, 그 여러 세부 사항은 모두 본 개시내용에서 벗어나지 않고 다양하고 명백한 양태에서 수정될 수 있다. 따라서, 도면 및 설명은 본질적으로 예시적인 것이며 제한적인 것으로 간주되어서는 안 된다.

[0062] **인용에 의한 포함**

[0063] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 각각의 개별 간행물, 특허 또는 특허 출원이 참조로 포함되도록 구체적이고 개별적으로 표시된 것과 동일한 정도로 참조로 본원에 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0064] 본 개시내용의 신규한 특징은 첨부된 청구범위에서 구체적으로 설명된다. 본 발명의 원리가 활용되는 예시적인 실시양태를 설명하는 다음의 상세한 설명과 첨부 도면을 참조함으로써 본 개시내용의 특징 및 장점을 더 잘 이해할 수 있을 것이다:

도 1은 DUX4를 코딩하는 D4Z4 반복 배열 내의 2개의 CpG 섬 사이에 서로 다른 표적 폴리뉴클레오티드 서열(예: 순위 #1 ~ 순위 #91)을 제공한다.

도 2는 DUX4를 코딩하는 D4Z4 반복 배열 내의 다양한 가이드 RNA 분자 표적 폴리뉴클레오티드 서열(예: 순위 #1

~ 순위 #91)과 복합체를 형성하는 유전자 조절인자(예, dCas-KRAB-DNMT3A-DNMT3L)에 연결된 이중 액추에이터 모이어티에 의해 표적 세포 집단(예, 림프아구)에서 DUX4 발현의 조절을 제공한다.

도 3a는 불멸화된 환자 유래 인간 FSHD 골격 근아세포(SkM) 세포(12ABIC/12A 및 15ABIC/15A)에서의 DUX4 및 DUX4-표적 유전자의 유전자 발현을 도시한 것이다. DUX4 및 DUX4 표적 유전자의 유전자 발현은 12ABIC 및 15ABIC 미분화 세포, 분화 2일 후 12ABIC 및 15ABIC 세포, 및 분화 7일 후 12ABIC 및 15ABIC 세포에서 측정된다. 그래프의 각 회색 음영은 오른쪽 범례에 해당하는 다른 유전자의 유전자 발현을 도시한 것이다. 도 3b는 분화 2일 후 건강한 형제 대조 근아세포 각각 12UBIC 및 15VBIC(왼쪽 열)과 비교하여 FSHD 근아세포 12ABIC 및 15ABIC(오른쪽 열)에서 세포사멸 세포의 비율을 도시한 것이다. 왼쪽 이미지의 흰색 점은 세포사멸 세포를 나타낸다. 오른쪽 그래프는 왼쪽 이미지에 표시된 분화 2일 후 12ABIC, 15ABIC, 12UBIC, 및 15VBIC 세포 배양에서 세포사멸 세포의 백분율을 도시한 것이다. DAPI 염색은 핵을 염색하는 데 사용된다. 도 3c는 분화 7일 후 12ABIC, 15ABIC, 12UBIC, 및 15VBIC 세포에서 세포사멸 세포의 백분율을 도시한 것이다. 세포사멸 세포의 백분율은 분화 0일, 1일, 2일, 및 7일에 측정한다. 도 3d는 분화 7일 후 12ABIC, 15ABIC, 12UBIC, 및 15VBIC 세포에서의 MYHC의 발현을 도시한 것이다. 미오신 중쇄(MYHC)는 근육 세포 분화의 지표이다. 흰색 점은 MYHC의 발현을 나타낸다. 도 3e는 분화 7일 후 12ABIC, 15ABIC, 12UBIC, 및 15VBIC 세포에서의 MYOG, MYH2, 및 MYMK의 발현 수준을 도시한 것이다. MYOG는 골격근 분화를 조절하는 근원성 조절 인자이고, MyoMaker(MYMK)는 근육 세포 분화의 마커이다. DAPI 염색은 핵을 염색하는 데 사용된다. 12ABIC 및 15ABIC 세포에 대한 발현 수준은 분화 2일차 및 7일차에 측정된다. 12A UD 및 15A UD: 미분화되고 증식하는 대조 근아세포. 어두운 회색 막대는 MYOG 발현 수준을 나타내고, 밝은 회색 막대는 MYH2 발현 수준을 나타내며, 회색 막대는 MYMK 발현 수준을 나타낸다.

도 4는 D4Z4 반복 영역과 관련된 다중 gRNA의 설계를 도시한 것이다. 여러 DUX4 표적화 gRNA는 DZ4Z 반복 영역에 걸쳐 설계되었다. DZ4Z 반복 영역과 DUX4 유전자의 서로 관련된 위치는 도 4의 하단에 표시되어 있다. 새롭게 설계된 gRNA는 도 4의 상단에 나타나 있다.

도 5는 Cas12f 이펙터-조절인자 벡터 디자인을 도시한 것이다. Cas12f 변이체, KRAB 도메인, 및 DNMT3L 도메인의 발현은 근육 특이적 프로모터인 CK8e의 제어하에 있다. RNA 폴리머라제 III에 의해 구동되는 스캐폴드를 갖는 sgRNA 스페이서 서열의 발현은 인간 U6g 프로모터의 제어하에 있다. 상기 벡터에는 변형된 WPRE 및 폴리아데닐화 조절 서열이 더 포함되어 있다.

도 6a는 78개의 gRNA가 12ABIC 근아세포에 뉴클레오펙션 후 Cas12f-KRAB 이펙터-조절인자를 안정적으로 발현하는 12ABIC FSHD 근아세포에서 DUX4의 상대적인 발현 수준을 도시한 것이다. 뉴클레오펙션 후, 세포는 DUX4의 유전자 발현을 측정하기 전 7일 동안 분화 조건에서 배양된다. 테스트된 78개의 gRNA는 x축에 나열되어 있으며 y축은 DUX4의 상대적 배수 발현을 나타낸다. DUX4의 발현 수준은 대조 유전자 HPRT1의 발현으로 정규화되었다. 도 6b는 78개의 gRNA가 12ABIC 근아세포에 뉴클레오펙션 후 Cas12f-KRAB 이펙터-조절인자를 안정적으로 발현하는 12ABIC FSHD 근아세포에서 DUX4의 상대적인 발현 수준을 도시한 것이다. 뉴클레오펙션 후, 세포는 DUX4의 유전자 발현 및 DUX4 표적 유전자인 MBD3L2가 측정되기 전 7일 동안 분화 조건에서 배양된다.

도 7a는 6개의 gRNA 및 Cas12f 이펙터-조절인자로 형질감염된 불멸화된 환자 유래 FSHD 근아세포에서 DUX4 및 DUX4-표적 유전자인 DBET/DUX4, MBD3L2, 및 TRIM48의 억제력을 도시한 것이다. Cas12f 이펙터-조절인자는 Cas12f 변종, KRAB 도메인, 및 DNMT-KLa 도메인을 발현한다. 6개의 sgRNA 중 하나는 DZ4Z 반복 영역을 표적으로 하지 않는 대조 sgRNA(Empty/tracr)이다. MYOG의 발현 수준은 DUX4 sgRNA 형질감염 세포의 분화 능력이 대조군 sgRNA 형질감염 근아세포와 유사한지 분석하기 위해 세포에서 측정된다. DUX4, DUX4 표적 유전자, 및 MYOG의 발현 수준은 형질감염 후 17일에 측정된다. 도 7b는 6개의 gRNA 및 Cas12f 이펙터-조절인자로 형질감염된 불멸화된 환자 유래 FSHD 근아세포에서 DUX4 및 DUX4-표적 유전자인 DBET/DUX4, MBD3L2, 및 TRIM48의 억제력을 도시한 것이다. Cas12f 이펙터-조절인자는 Cas12f 변종, KRAB 도메인, 및 DNMT-KLb 도메인을 발현한다. 6개의 sgRNA 중 하나는 DZ4Z 반복 영역을 표적으로 하지 않는 대조 sgRNA(Empty)이다. MYOG의 발현 수준은 DUX4 sgRNA 형질감염 세포의 분화 능력이 대조 sgRNA 형질감염 근아세포와 유사한지 분석하기 위해 세포에서 측정된다. DUX4, DUX4 표적 유전자, 및 MYOG의 발현 수준은 형질감염 후 18일에 측정된다.

도 8a 및 8b는 Cas12f 이펙터-조절인자 및 DUX4-표적화 gRNA로 형질감염된 FSHD-환자 유래 근아세포의 세포사멸 수준을 도시한 것이다. 세포사멸 양성 세포의 백분율은 형질감염 후 2일 동안의 분화 후에 측정된다. 도 8a에서의 이미지는 Cas12f 이펙터-조절인자 및 DUX4-표적화 gRNA로 형질감염된 대조 12UBIC 세포 및 12ABIC 세포에서 세포사멸 세포의 비율을 도시한 것이다. 흰색 점은 세포사멸 세포를 나타낸다. 도 8b에서의 그래프는 왼쪽 이미지에서 측정된 세포사멸 세포의 백분율뿐만 아니라 DUX4-표적화 gRNA 또는 DUX4를 표적으로 하지 않는 대조

gRNA로 형질감염된 12ABIC 세포의 세포사멸 세포의 백분율을 도시한 것이다. DAPI 염색은 핵을 염색하는 데 사용된다.

도 9는 생체의 FSHD 모델에 대한 작업 흐름을 도시한 것이다. 생체의 모델은 불멸화된 건강한 형제 대조 세포와 FSHD 골격 근아세포를 배양한 다음 세포를 3D 조직으로 조작한다. 3D 조직은 제어 AAV 또는 Cas12f 이펙터 조절인자 벡터가 포함된 AAV로 처리된다. 그런 다음 3D 조직은 3D 조직 형태 및 유전자 발현 프로파일을 측정하는 것 외에도, 기계적 힘, 강직성 힘, 및 피로의 표현형 차이를 테스트한다.

도 10은 생체내 이종이식 모델에 대한 작업 흐름을 도시한 것이다. 생체내 모델은 인간 근아세포를 마우스 다리에 이식할 준비를 하기 위해 마우스 다리를 방사선 조사 및 TA 근육 심장독소로 처리하는 것으로 시작된다. 이식 후, 마우스를 대조군 AAV 또는 Cas12f 이펙터-조절인자 벡터가 포함된 AAV로 처리한다. 지정된 시점에 마우스를 안락사시키고 분석을 위해 이종이식편 및 조직 샘플을 수집한다. 수집된 이종이식편을 고정하고 절개한 후 헤마톡실린과 에오신으로 염색한다. 나머지 조직은 유전자 발현 분석뿐만 아니라 마우스 내에서 AAV 친화성을 결정하는 데 사용된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0065] 하나 이상의 유전자의 비정상적인 발현은 질병 또는 병태를 유발할 수 있다. 비정상적인 발현은 유전자(들)의 비정상적으로 낮은 발현 수준을 특징으로 할 수 있다. 대안적으로, 비정상적인 발현은 유전자(들)의 비정상적으로 높은 발현 수준을 특징으로 할 수 있다. 어떤 경우에, 유전자(들)를 유전적으로 변형하여(예: CRISPR-Cas 효소와 같은 엔도뉴클레아제의 작용을 통해) 비정상적인 발현을 역전시킬 수 있다(예: 뒤시엔 근이영양증(DMD) 치료를 위해). 대안적으로, 비정상적인 발현은 예를 들어 유전자 이펙터(예를 들어, 유전자 이펙터에 결합된 불활성화된 CRISPR-Cas 효소)로 유전자(들)를 표적화함으로써 그러한 관심 유전자(들)를 유전적으로 변형하지 않고 일시적으로 변형시킬 수 있다. 세포에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 일시적으로 변형하는 것은 표적 유전자의 비정상적인 발현에 의해 나타나는 질병을 치료하거나 완치하는 데 충분하지 않을 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 표적 유전자의 변형된 발현 수준이 연장된 기간 동안 지속될 수 있도록 표적 유전자의 비정상적인 발현을 변형시키기 위한 시스템 및 방법을 제공한다.

[0066] 표적 유전자의 비정상적인 발현의 변형

[0067] 본 개시내용은 세포(예를 들어, 근육 세포)에서 표적 유전자의 비정상적인 발현을 조절하기 위한 조성물, 시스템 및 이의 방법을 제공한다. 예를 들어, 표적 유전자는 D4Z4 반복 배열 내에 있을 수 있다. 표적 유전자는 DUX4의 적어도 일부를 코딩할 수 있다. 본원에 개시된 조성물, 시스템, 및 방법은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)을 변형시키기 위해 적어도 이중 폴리펩티드(예를 들어, 이중 액추에이터 모이어티, 선택적으로 가이드 핵산 분자와 같은 이중 폴리뉴클레오티드와 함께)를 활용할 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 조성물, 시스템, 및 방법은 이중 유전자 이펙터 또는 조절인자(예를 들어, 유전자 액추에이터, 유전자 억제인자 등)에 작동가능하게 결합(예를 들어, 공유 또는 비공유 결합)된 이중 액추에이터 모이어티를 활용하여 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준을 변형시킬 수 있다.

[0068] 일부 경우에, 세포는 근육 세포일 수 있다. 본원에 개시된 근육 세포는 임의의 발달 상태에 있는 근육 세포의 임의의 부류일 수 있다. 근육 세포는 미분화된 근육 세포(예를 들어, 근육 줄기세포, 근육 위성세포, 근아세포 등과 같은 단핵 세포)를 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 근육 세포는 분화된 근육 세포(예를 들어 근관과 같은 다핵 근육 세포)를 포함할 수 있다. 근육 세포는 골격근세포, 심장 근육 세포, 또는 평활근 세포일 수 있다. 예를 들어, 골격근세포는 1차 근아세포(예: 불멸화된 1차 근아세포 세포주)일 수 있다. 어떤 경우에는, 세포가 림프아구와 같은 비근육 세포일 수도 있다.

[0069] 일부 경우에, 표적 유전자는 본원에 개시된 바와 같이 세포의 4번 염색체에 있을 수 있다. 어떤 경우에, 표적 유전자가 세포의 10번 염색체의 q(긴) 암의 원위 부분과 같이 세포의 10번 염색체에 있을 수 있다.

[0070] 본원에 개시된 표적 유전자의 변형 이전에, 표적 유전자의 비정상적인 발현은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)이 대조 세포(예: 건강한 대상체의 건강한 세포)에서의 수준보다 적어도 약 1%, 5%, 10%, 20%, 50%, 100%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 또는 그 이상임을 특징으로 할 수 있다. 비정상적인 발현은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)이 대조 세포(예를 들어, 건강한 대상체의 건강한 세포)에서 보다 최대 약 500%, 400%, 300%, 200%, 150%, 100%, 50%, 20%, 10%, 5%, 1%, 또는 그 이하임을 특징으로 할 수 있다.

- [0071] 본원에 개시된 표적 유전자의 변형 이전에, 표적 유전자의 비정상적인 발현은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)이 대조 세포(예: 건강한 대상체의 건강한 세포)에서의 수준보다 적어도 약 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 70%, 99%, 또는 그 이상임을 특징으로 할 수 있다. 비정상적인 발현은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)이 대조 세포(예를 들어, 건강한 대상체의 건강한 세포)에서 보다 최대 약 100%, 70%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 1%, 또는 그 이하임을 특징으로 할 수 있다.
- [0072] 본원에 개시된 표적 유전자의 변형 이전에, 표적 유전자의 비정상적인 발현은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)의 지속 기간이 대조 세포(예: 건강한 대상체의 건강한 세포)에서의 것보다 적어도 약 1%, 5%, 10%, 20%, 50%, 100%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 또는 그 이상 더 긴 것을 특징으로 할 수 있다. 비정상적인 발현은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)의 지속 기간이 대조 세포(예를 들어, 건강한 대상체의 건강한 세포)에서 보다 최대 약 500%, 400%, 300%, 200%, 150%, 100%, 50%, 20%, 10%, 5%, 1%, 또는 그 이하로 더 긴 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0073] 본원에 개시된 표적 유전자의 변형 이전에, 표적 유전자의 비정상적인 발현은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)의 지속 기간이 대조 세포(예: 건강한 대상체의 건강한 세포)에서의 것보다 적어도 약 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 70%, 99%, 또는 그 이상 더 짧은 것을 특징으로 할 수 있다. 비정상적인 발현은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)의 지속 기간이 대조 세포(예를 들어, 건강한 대상체의 건강한 세포)에서 보다 최대 약 100%, 70%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 1%, 또는 그 이하로 더 짧은 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0074] 본원에 개시된 바와 같은 표적 유전자의 변형에 이어서, 표적 유전자의 비정상적인 발현의 변형은 표적 유전자의 증가된 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)이 대조군(예를 들어, 변형 없음)과 비교하여 적어도 약 1%, 5%, 10%, 20%, 50%, 100%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 또는 그 이상임을 특징으로 할 수 있다. 표적 유전자의 비정상적인 발현의 변형은 표적 유전자의 증가된 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)이 대조군과 비교하여 최대 약 500%, 400%, 300%, 200%, 150%, 100%, 50%, 20%, 10%, 5%, 1% 또는 그 이하임을 특징으로 할 수 있다.
- [0075] 본원에 개시된 바와 같은 표적 유전자의 변형에 이어서, 표적 유전자의 비정상적인 발현의 변형은 표적 유전자의 감소된 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)이 대조군(예를 들어, 변형 없음)과 비교하여 적어도 약 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 70%, 99%, 또는 그 이상임을 특징으로 할 수 있다. 표적 유전자의 비정상적인 발현의 변형은 표적 유전자의 감소된 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)이 대조군과 비교하여 최대 약 100%, 70%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 1%, 또는 그 이하임을 특징으로 할 수 있다.
- [0076] 본원에 개시된 바와 같은 표적 유전자의 변형에 이어서, 표적 유전자의 비정상적인 발현의 변형은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)의 증가된 지속 기간이 대조군(예를 들어, 변형 없음)과 비교하여 적어도 약 1%, 5%, 10%, 20%, 50%, 100%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 또는 그 이상임을 특징으로 할 수 있다. 표적 유전자의 비정상적인 발현의 변형은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)의 증가된 지속 기간이 대조군과 비교하여 최대 약 500%, 400%, 300%, 200%, 150%, 100%, 50%, 20%, 10%, 5%, 1%, 또는 그 이하임을 특징으로 할 수 있다.
- [0077] 본원에 개시된 바와 같은 표적 유전자의 변형에 이어서, 표적 유전자의 비정상적인 발현의 변형은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)의 감소된 지속 기간이 대조군(예를 들어, 변형 없음)과 비교하여 적어도 약 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 70%, 99%, 또는 그 이상임을 특징으로 할 수 있다. 표적 유전자의 비정상적인 발현의 변형은 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)의 감소된 지속 기간이 최대 약 100%, 70%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 1%, 또는 그 이하임을 특징으로 할 수 있다.
- [0078] 본원에 개시된 바와 같은 표적 유전자의 변형 이후, 표적 유전자(예를 들어, 비정상적으로 발현된 표적 유전자)의 변형된 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)은 적어도 약 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 2주, 3주, 4주, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 2년, 3년, 4년, 5년 이상 지속될 수 있다. 본원에 개시된 표적 유전자의 변형 이후, 표적 유전자(예를 들어, 비정상적으로 발현된 표적 유전자)의 변형된 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)은 최대 약 5년, 4년, 3년, 2년, 12개월, 11개월, 10개월, 9개월, 8개월, 7개월, 6개월, 5개월, 4개월, 3개월, 2개월, 1개월, 또는 그 이하임을 특징으로 할 수 있다.

월, 2개월, 4주, 3주, 2주, 7일, 6일, 5일, 4일, 3일, 2일, 1일 이하 동안 지속될 수 있다.

[0079] 본원에 개시된 바와 같은 표적 유전자의 변형 이후, 표적 유전자(예를 들어, 비정상적으로 발현된 표적 유전자)의 변형된 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)은 적어도 약 1회의 세포 분열, 적어도 약 2회의 세포 분열, 적어도 약 3회의 세포 분열, 적어도 약 4회의 세포 분열, 적어도 약 5회의 세포 분열, 적어도 약 6회의 세포 분열, 적어도 약 7회의 세포 분열, 적어도 약 8회의 세포 분열, 적어도 약 9회의 세포 분열, 적어도 약 10회의 세포 분열, 적어도 약 15회의 세포 분열, 적어도 약 20회의 세포 분열, 적어도 약 25회의 세포 분열, 적어도 약 30회의 세포 분열, 적어도 약 40회의 세포 분열, 적어도 약 50회의 세포 분열, 또는 적어도 약 100회의 세포 분열 동안 지속될 수 있다. 본원에 개시된 바와 같은 표적 유전자의 변형 이후, 표적 유전자(예를 들어, 비정상적으로 발현된 표적 유전자)의 변형된 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)은 최대 약 100회의 세포 분열, 최대 약 50회의 세포 분열, 최대 약 40회의 세포 분열, 최대 약 30회의 세포 분열, 최대 약 25회의 세포 분열, 최대 약 20회의 세포 분열, 최대 약 15회의 세포 분열, 최대 약 10회의 세포 분열, 최대 약 9회의 세포 분열, 최대 약 8회의 세포 분열, 최대 약 7회의 세포 분열, 최대 약 6회의 세포 분열, 최대 약 5회의 세포 분열, 최대 약 4회의 세포 분열, 최대 약 3회의 세포 분열, 최대 약 2회의 세포 분열, 또는 최대 약 1회의 세포 분열 동안 지속될 수 있다.

[0080] 본원에 개시된 바와 같이, 후성적 변형의 비제한적인 예로 메틸화, 아세틸화, 인산화, ADP-리보실화, 글리코실화, SUMO화, 유비퀴틴화, 히스톤 구조의 변형(예를 들어, ATP 가수분해 의존 과정을 통해)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 후성적 변형은 하나 이상의 표적 유전자의 변형된 메틸화 수준을 일으킬 수 있다.

[0081] 본원에 개시된 바와 같이, 표적 유전자의 지속적인 변형된 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)은 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 적어도 약 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%를 유지하는 것을 특징으로 할 수 있다. 표적 유전자의 지속적인 변형된 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준(예를 들어, 메틸화 수준)은 표적 유전자의 변형된 발현 수준 및/또는 메틸화 수준의 최대 약 100%, 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 또는 70%를 유지하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0082] 본원에 개시된 시스템, 조성물, 및 방법은 대상체의 질병(예를 들어, 근이영양증, 예컨대 안면건갑상완 근이영양증(FSHD))을 치료하거나 개선하는 데 사용될 수 있다.

[0083] **이중 폴리펩티드**

[0084] 본원에 개시된 바와 같은 이중 폴리펩티드는 단독으로 또는 이중 폴리뉴클레오티드(예를 들어, 가이드 핵산)와 같은 하나 이상의 공동 작용제와 함께 표적 폴리뉴클레오티드 서열에 특이적으로 결합하여, 본원에 개시된 바와 같이, 표적 세포에서 표적 유전자(예를 들어, D4Z4 반복 배열)의 발현 수준 및/또는 후성적 수준을 조절하도록 구성될 수 있다. 표적 폴리뉴클레오티드 서열은 표적 유전자에 (예를 들어, 내부) 있을 수 있다. 대안적으로, 표적 폴리뉴클레오티드 서열은 표적 유전자에 인접할 수 있다. 예를 들어, 표적 폴리뉴클레오티드 서열은 표적 유전자의 말단(예를 들어, 5' 말단 또는 3' 말단)에 인접할 수 있다. 표적 폴리뉴클레오티드 서열은 적어도 약 5개 핵염기, 적어도 약 10개 핵염기, 적어도 약 20개 핵염기, 적어도 약 30개 핵염기, 적어도 약 40개 핵염기, 적어도 약 50개 핵염기, 적어도 약 100개 핵염기, 적어도 약 150개 핵염기, 적어도 약 200개 핵염기, 적어도 약 250개 핵염기, 적어도 약 300개 핵염기, 적어도 약 400개 핵염기, 적어도 약 500개 핵염기, 적어도 약 1,000개 핵염기, 적어도 약 1,500개 핵염기, 적어도 약 2,000개 핵염기, 적어도 약 3,000개 핵염기, 적어도 약 4,000개 핵염기, 또는 적어도 약 5,000개 핵염기가 표적 유전자의 말단으로부터 떨어져 있다. 표적 폴리뉴클레오티드 서열은 최대 약 5,000개 핵염기, 최대 약 4,000개 핵염기, 최대 약 3,000개 핵염기, 최대 약 2,000개 핵염기, 최대 약 1,500개 핵염기, 최대 약 1,000개 핵염기, 최대 약 500개 핵염기, 최대 약 400개 핵염기, 최대 약 300개 핵염기, 최대 약 200개 핵염기, 최대 약 150개 핵염기, 최대 약 100개 핵염기, 최대 약 50개 핵염기, 최대 약 40개 핵염기, 최대 약 30개 핵염기, 최대 약 20개 핵염기, 최대 약 10개 핵염기, 또는 최대 약 5개 핵염기가 표적 유전자의 말단으로부터 떨어져 있다.

[0085] 이론에 구애됨이 없이, 표적 폴리뉴클레오티드 서열이 표적 유전자 내에 없는 경우, 표적 폴리뉴클레오티드 서열은 표적 유전자의 적어도 일부(예를 들어, 표적 유전자의 프로모터 서열)와 상호반응하여(예를 들어, 직접 또는 간접 결합을 통하여), 예를 들어, 적어도 이중 폴리펩티드에 의한(예를 들어, 본원에 개시된 바와 같은 이중 폴리펩티드와 이중 폴리뉴클레오티드를 포함하는 복합체에 의한) 표적 폴리뉴클레오티드 서열의 결합 또는 표적화가 표적 유전자의 적어도 일부(예를 들어, 프로모터 서열)를 표적화하여, 세포에서 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 수준을 조절을 가져올 수 있다.

- [0086] 일부 경우에, 표적 폴리뉴클레오티드 서열은 복수의 표적 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 복수의 표적 폴리뉴클레오티드 서열은 표적 유전자 내에 있을 수 있다. 대안적으로, 복수의 표적 폴리뉴클레오티드 서열은 본원에 개시된 바와 같이 표적 유전자의 외부이지만 이에 인접할 수 있다. 또 다른 대안으로, 복수의 표적 폴리뉴클레오티드 서열은 표적 유전자 내의(예를 들어, D4Z4 반복 도메인 내의) 적어도 하나의 표적 폴리뉴클레오티드 서열 및 표적 유전자의 외부에 있지만 이에 인접한 적어도 하나의 추가적인 표적 폴리뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 그러한 경우, 적어도 하나의 표적 폴리뉴클레오티드 서열 및 적어도 하나의 추가적인 표적 폴리뉴클레오티드 서열 둘 다를 표적화하는 것은 하나의 표적 폴리뉴클레오티드 서열 및 적어도 하나의 추가적인 표적 폴리뉴클레오티드 서열 중 하나만을 표적화하는 것에 비해, 더 큰 효과(예를 들어, 표적 유전자의 발현 및/또는 후성적 수준의 더 큰 조절 정도)(예를 들어, 적어도 0.1배, 적어도 0.5배, 적어도 1배, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 적어도 15배, 적어도 20배, 또는 그 이상)를 낼 수 있다.
- [0087] 본원에 개시된 이중 폴리펩티드는 하나 이상의 이중 유전자 이펙터(예를 들어, 본 개시내용의 복합체 내의 유전자 이펙터 및/또는 또 다른 성분을 포함하는 세포에 이중성인 유전자 이펙터)를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현을 조절할 수 있거나 조절하는, 예를 들어 상기 유전자의 발현 수준 또는 활성 수준을 활성화, 억제, 상향 조절, 하향 조절 또는 안정화할 수 있는, 또는 후보인 도메인을 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 복합체에 존재하는 또 다른 성분, 예를 들어 가이드 모이어티(예를 들어, 본원에 개시된 뉴클레아제 및/또는 가이드 핵산)에 대해 이중성일 수 있다. 일부 경우에, 이중 유전자 이펙터는 이들이 도입되는 숙주 세포와 관련하여 이중성일 수 있다.
- [0088] 이중 유전자 이펙터는 임의의 적합한 공급원으로부터의 서열, 예를 들어 인간 단백질, 바이러스 단백질, 또는 본원에 개시된 다른 단백질로부터의 아미노산 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 주로 핵에 편재된 단백질, 예를 들어 인간 핵 프로테오솜의 멤버일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 하나 이상의 천연 아미노산 잔기일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 하나 이상의 합성 아미노산 잔기일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.
- [0089] 이중 유전자 이펙터는 포유동물 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 인간 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 바이러스 단백질의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 비인간 영장류 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 비인간 포유동물 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 비설치류 포유동물 단백질로부터의 서열이거나 서열을 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 식물 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 돼지 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 토끼목 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 개 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 조류 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 파충류 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 박테리아 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 고세균 단백질로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.
- [0090] 예를 들어, 본원에 개시된 이중 유전자 이펙터의 아미노산 서열은 박테리아 단백질로부터 유래되지 않을 수도 있고 유래될 필요가 없을 수도 있다(예를 들어, 고세균 단백질로부터 유래될 수 있음). 이론에 구애됨이 없이, 이를 필요로 하는 대상체는 비세균성 단백질 유래 이중 유전자 이펙터를 포함하는 조성물로 치료될 수 있으며, 이로써 상기 조성물은 (i) 대상체에서 박테리아 자극을 유도하고/하거나 (ii) 대상체에서 박테리아성 면역을 끌어내지 않을 수 있다.
- [0091] 이중 액추에이터 모이어티는 뉴클레아제(예를 들어, 엔도뉴클레아제)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 뉴클레아제는 CRISPR/Cas 단백질일 수 있다. 뉴클레아제는 역치 길이보다 짧은 길이를 가질 수 있다. 역치 길이는 최대 약 1,000개 아미노산, 최대 약 950개 아미노산, 최대 약 900개 아미노산, 최대 약 850개 아미노산, 최대 약 800개 아미노산, 최대 약 750개 아미노산, 최대 약 700개 아미노산, 최대 약 650개 아미노산, 최대 약 600개 아미노산, 최대 약 550개 아미노산, 최대 약 500개 아미노산, 최대 약 450개 아미노산, 최대 약 400개 아미노산, 최대 약 350개 아미노산, 또는 최대 약 300개의 아미노산일 수 있다. 역치 길이는 적어도 약 300개 아미노산, 적어도 약 350개 아미노산, 적어도 약 400개 아미노산, 적어도 약 450개 아미노산, 적어도 약 500개 아미노산, 적어도 약 550개 아미노산, 적어도 약 600개 아미노산, 적어도 약 650개 아미노산, 적어도 약 700개 아미노산, 적어도 약 750개 아미노산, 적어도 약 800개 아미노산, 적어도 약 850개 아미노산, 적어도 약 900개

아미노산, 적어도 약 950개 아미노산, 또는 적어도 약 1,000개의 아미노산일 수 있다.

- [0092] 이론에 구애됨이 없이, 역치 길이보다 작은 뉴클레아제 크기를 사용하는 것은 역치 길이보다 큰 크기를 갖는 대조 뉴클레아제를 사용하는 것보다 하나 이상의 장점을 가질 수 있다. 제한된 크기(예를 들어, 뉴클레아제를 포획하기 위한 제한된 물리적 크기 또는 제한된 발현 카세트 크기, 예컨대 바이러스 계능)를 갖는 전달 비히클을 사용하는 경우 하나 이상의 유전자 조절인자(예를 들어, 전사 조절인자) 및/또는 하나 이상의 이중 폴리뉴클레오티드(예를 들어, 하나 이상의 가이드 핵산 분자)와 같은 하나 이상의 보조제에 대해 충분한 공간(또는 발현 카세트 내의 충분한 공간)을 남길 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 역치 크기 이하의 크기를 갖는 뉴클레아제를 사용하면 역치 크기보다 큰 크기를 갖는 대조 뉴클레아제에 의한 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 수준의 조절에 대한 효과와 비교하여, 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 수준의 조절에 대해 더 큰 효과를 유도할 수 있다.
- [0093] 일부 예에서, 본원에 개시된 뉴클레아제(예를 들어, 역치 크기 이하의 크기를 갖는)에 의한 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 수준의 조절 정도(예를 들어, 증가 또는 감소)는 대조 뉴클레아제(예를 들어, 역치 크기보다 더 큰 크기를 갖는)에 의한 것보다 적어도 또는 최대 약 0.1배, 적어도 또는 최대 약 0.5배, 적어도 또는 최대 약 1배, 적어도 또는 최대 약 2배, 적어도 또는 최대 약 3배, 적어도 또는 최대 약 4배, 적어도 또는 최대 약 5배, 적어도 또는 최대 약 6배, 적어도 또는 최대 약 7배, 적어도 또는 최대 약 8배, 적어도 또는 최대 약 9배, 적어도 또는 최대 약 10배, 적어도 또는 최대 약 15배, 적어도 또는 최대 약 20배, 적어도 또는 최대 약 25배, 적어도 또는 최대 약 30배, 적어도 또는 최대 약 40배, 적어도 또는 최대 약 50배, 적어도 또는 최대 약 60배, 적어도 또는 최대 약 70배, 적어도 또는 최대 약 80배, 적어도 또는 최대 약 90배, 또는 적어도 또는 최대 100배 정도 더 클 수 있다.
- [0094] 일부 예에서, 본원에 개시된 뉴클레아제(예를 들어, 역치 크기 이하의 크기를 갖는)에 의한 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 수준의 조절 정도(예를 들어, 증가 또는 감소)는 대조 뉴클레아제(예를 들어, 역치 크기보다 더 큰 크기를 갖는)에 의한 것보다 적어도 또는 최대 약 0.1배, 적어도 또는 최대 약 0.5배, 적어도 또는 최대 약 1배, 적어도 또는 최대 약 2배, 적어도 또는 최대 약 3배, 적어도 또는 최대 약 4배, 적어도 또는 최대 약 5배, 적어도 또는 최대 약 6배, 적어도 또는 최대 약 7배, 적어도 또는 최대 약 8배, 적어도 또는 최대 약 9배, 적어도 또는 최대 약 10배, 적어도 또는 최대 약 15배, 적어도 또는 최대 약 20배, 적어도 또는 최대 약 25배, 적어도 또는 최대 약 30배, 적어도 또는 최대 약 40배, 적어도 또는 최대 약 50배, 적어도 또는 최대 약 60배, 적어도 또는 최대 약 70배, 적어도 또는 최대 약 80배, 적어도 또는 최대 약 90배, 또는 적어도 또는 최대 100배 정도 더 오래 지속될 수 있다.
- [0095] 일부 예에서, 본원에 개시된 뉴클레아제(예를 들어, 역치 크기 이하의 크기를 갖는)에 의한 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 수준의 조절 정도(예를 들어, 증가 또는 감소)는 대조 뉴클레아제(예를 들어, 역치 크기보다 더 큰 크기를 갖는)에 의한 것보다 적어도 또는 최대 약 1회 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 2회 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 3회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 4회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 5회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 6회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 7회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 8회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 9회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 10회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 11회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 12회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 13회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 14회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 15회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 16회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 17회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 18회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 19회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 20회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 25회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 30회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 40회의 세포 분열, 적어도 또는 최대 약 50회의 세포 분열, 또는 적어도 약 100회의 세포 분열 만큼 더 오래 지속될 수 있다(있거나 더 오래 지속될 수 있다). 본원에 개시된 바와 같이, 세포 분열은 모 세포가 모 세포와 실질적으로 동일한 유전 물질을 갖는 2개의 딸세포로 분할되는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0096] 이중 유전자 이펙터는 염색질 조절인자(CR)로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. 염색질 조절인자에는 다양한 부류의 히스톤 및 DNA 변형 효소(예: DNMT, HAT, HMT 등)의 기능성 도메인이 포함된다.
- [0097] 이중 유전자 이펙터는 예를 들어 C-말단, N-말단에 위치하거나 폴리펩티드 서열 내에 위치하는 염색질 조절인자로부터의 2개 이상의 도메인을 나란히 또는 별도로 포함할 수 있다.
- [0098] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 이중 염색질 형성을 촉진한다. 이중 염색질 형성을 촉진할 수 있는 단백질의 비제한적인 예에는 HP1 α , HP1 β , KAP1, KRAB, SUV39H1, 및 G9a가 포함된다.

- [0099] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 메틸화를 통해 히스톤을 조절한다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 아세틸화를 통해 히스톤을 조절한다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 인산화를 통해 히스톤을 조절한다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 ADP-리보실화를 통해 히스톤을 조절한다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 글리코실화를 통해 히스톤을 조절한다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 SUMO화를 통해 히스톤을 조절한다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 유비퀴틴화를 통해 히스톤을 조절한다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 예를 들어 ATP 가수분해 의존 과정을 통해 히스톤 구조를 리모델링함으로써 히스톤을 조절한다.
- [0100] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 표적 폴리뉴클레오티드 상에 또는 근처에 있는 단백질, 예를 들어 전사 억제인자, 전사 인자, 히스톤 등의 공간적 위치 지정을 촉진한다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 예를 들어 다양한 세포 기능을 조절하기 위해, 핵 및/또는 세포질에 있는 게놈 DNA 및 RNA 구성 요소의 시공간 조직을 조작하는 데 유용하다.
- [0101] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 히스톤 아세틸트랜스퍼라제로부터 유래된다. 히스톤 아세틸트랜스퍼라제의 비제한적 예에는 GNAT 서브패밀리, MYST 서브패밀리, p300/CBP 서브패밀리, HAT1 서브패밀리, GCN5, PCAF, Tip60, MOZ, MORF, MOF, HBO1, p300, CBP, HAT1, ATF-2, SRC1, 및 TAFII250이 포함된다.
- [0102] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 히스톤 리신 메틸트랜스퍼라제로부터 유래된다. 히스톤 리신 메틸트랜스퍼라제의 비제한적 예에는 EZH 서브패밀리, 비-SET 서브패밀리, 기타 SET 서브패밀리, PRDM 서브패밀리, SET1 서브패밀리, SET2 서브패밀리, SUV39 서브패밀리, SYMD 서브패밀리, ASH1L, EHMT1, EHMT2, EZH1, EZH2, MLL, MLL2, MLL3, MLL4, MLL5, NSD1, NSD2, NSD3, PRDM1, PRDM10, PRDM11, PRDM12, PRDM13, PRDM14, PRDM15, PRDM16, PRDM2, PRDM4, PRDM5, PRDM6, PRDM7, PRDM8, PRDM9, SET1, SET1L, SET2L, SETD2, SETD3, SETD4, SETD5, SETD6, SETD7, SETD8, SETDB1, SETDB2, SETMAR, SUV39H1, SUV39H2, SUV420H1, SUV420H2, SYMD1, SYMD2, SYMD3, SYMD4, 및 SYMD5이 포함된다.
- [0103] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 염색질 리모델링 복합체의 성분으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 BAF의 성분, 예를 들어 액틴, ARIDA/B, BAF155, BAF170, BAF45 A/B/C/D, BAF53 A/B, BAF57, BAF60 A/B/C, BRG1/BRM, INI1, 또는 SS18이다.
- [0104] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 PBAF의 성분, 예를 들어 액틴, ARID2, BAF155, BAF170, BAF180, BAF45 A/B/C/D, BAF53 A/B, BAF57, BAF60 A/B/C, BRD7, BRG1, 또는 INI1로부터 유래된다.
- [0105] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 ISWI 계열 염색질 리모델링 복합체의 성분, 예를 들어 ACF 서브패밀리, RSF 서브패밀리, CERF 서브패밀리, CHRAC 서브패밀리, NURF 서브패밀리, NoRC 서브패밀리, WICH 서브패밀리, b-WICH 서브패밀리, ACF1, ATPase, BPTF, CECR2, CHRAC15, CHRAC17, CSB, DEK, MYBBP1A, NM1, RBAP46/48, RHH1/Gua, RSF1, SAP155, SNF2H, SNF2H/L, SNF2L, TIP5, 또는 WSTF로부터 유래된다.
- [0106] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 CHD 계열 복합체의 성분, 예를 들어 NuRD 복합체, NuRD-유사 복합체, 또는 CHD 복합체로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 CHD1/2/6/7/8/9, CHD3/4, CHD5, GATAD2 A/B, GATAD2 B, HDAC1, HDAC2, HDAC2, MBD2/3, MTA1/2/3, MTA3, 또는 RBAP46, RBAP46/48로부터 유래된다.
- [0107] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 INO80 계열 복합체의 성분, 예를 들어 INO80 복합체, Tip60/p400 복합체, SRCAP 복합체, AMIDA, ARP6, BAF53, BAF53, BAF53A, BRD8, DMAP1, DMAP1, EPC1/2, FLJ11730, GAS41, GAS41, IES2, IES6, ING3, INO80, INO80E, MCRS1, MRG15, MRGBP, MRGX, NFRKB, p400, RUVBL1/2, RUVBL1/2, RUVBL1/2, SRCAP, Tip60, TRRAP, UCH37, YL-1, YL-1, YY1, 또는 ZnF-HIT1로부터 유래된다.
- [0108] 이중 유전자 이펙터는 전사 조절인자(TR)로부터의 서열일 수 있거나 이를 포함할 수 있다. TR 유전자 이펙터에는 다양한 전사 인자 계열(예: KRAB, p65, MED, GTF 등)의 전사 조절 도메인이 포함된다.
- [0109] 이중 유전자 이펙터는 전사 활성화인자 도메인을 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 예를 들어 C-말단, N-말단에 위치하거나 폴리펩티드 서열 내에 위치하는 2개 이상의 나란한 전사 활성화 도메인을 포함할 수 있다.
- [0110] 전사 활성화 도메인의 비제한적인 예에는 GAL4, 단순 포진 활성화 도메인 VP16, VP64(단순 포진 활성화 도메인 VP16의 사랑체), NF-KB p65 서브유닛, 엡스타인-바 바이러스 R 트랜스활성화 인자(Rta)가 포함된다. 일부 실시양태에서, 이러한 전사 활성화 도메인은 본 개시내용의 방법에서 대조군으로서 사용된다. 일부 실시양태에서, 이러한 전사 활성화 도메인은 적어도 하나의 추가적인 이중 유전자 이펙터(예를 들어, 다른 이펙터)를 포함하는

복합체에서 하나의 이중 유전자 이펙터로서 사용된다.

- [0111] 이중 유전자 이펙터는 전사 억제인자 도메인을 포함할 수 있다. 이중 유전자 이펙터는 예를 들어 C-말단, N-말단에 위치하거나 폴리펩티드 서열 내에 위치하는 2개 이상의 전사 억제인자 도메인을 나란히 또는 별도로 포함할 수 있다.
- [0112] 전사 억제인자 도메인의 비제한적 예에는 Kox1의 KRAB(Kruppel-associated box) 도메인, Mad mSIN3 상호작용 도메인(SID), 및 ERF 억제인자 도메인(ERD)이 포함된다. 일부 실시양태에서, 이러한 전사 억제인자 도메인은 본 개시내용의 방법에서 대조군으로서 사용된다. 일부 실시양태에서, 이러한 전사 억제인자 도메인은 적어도 하나의 추가적인 이중 유전자 이펙터(예를 들어, 다른 이펙터)를 포함하는 복합체에서 하나의 이중 유전자 이펙터로서 사용된다.
- [0113] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 전사 인자인 유전자 생성물로부터 유래된다.
- [0114] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 조혈 줄기세포 전사 인자인 유전자 생성물로부터 유래된다. 조혈 줄기세포 전사 인자의 비제한적인 예에는 AHR, Aiolos/IKZF3, CDX4, CREB, DNMT3A, DNMT3B, EGR1, FoxO3, GATA-1, GATA-2, GATA-3, Helios, HES-1, HHEX, HIF-1 알파/HIF1A, HMGB1/HMG-1, HMGB3, Ikaros, c-Jun, LMO2, LMO4, c-Maf, MafB, MEF2C, MYB, c-Myc, NFATC2, NFIL3/E4BP4, Nrf2, p53, PITX2, PRDM16/MEL1, Prox1, PU.1/Spi-1, RUNX1/CBFA2, SALL4, SCL/Tal1, Smad2, Smad2/3, Smad4, Smad7, Spi-B, STAT 활성화제, STAT 억제제, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT6, 및 TSC22가 포함된다.
- [0115] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 중간엽 줄기세포 전사 인자인 유전자 생성물로부터 유래된다. 중간엽 줄기세포 전사 인자의 비제한적인 예에는 DUX4, DUX4/DUX4c, DUX4c, EBF-1, EBF-2, EBF-3, ETV5, FoxC2, FoxF1, GATA-4, GATA-6, HMGA2, c-Jun, MYF-5, 미오카르딘(Myocardin), MyoD, 미오게닌(Myogenin), NFATC2, p53, Pax3, PDX-1/IPF1, PLZF, PRDM16/MEL1, RUNX2/CBFA1, Smad1, Smad3, Smad4, Smad5, Smad8, Smad9, Snail, SOX2, SOX9, SOX11, STAT 활성화제, STAT 억제제, STAT1, STAT3, TBX18, Twist-1, 및 Twist-2가 포함된다.
- [0116] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 배아 줄기세포 전사 인자인 유전자 생성물로부터 유래된다. 배아 줄기세포 전사 인자의 비제한적인 예에는 브라키우리(Brachyury), EOMES, FoxC2, FoxD3, FoxF1, FoxH1, FoxO1/FKHR, GATA-2, GATA-3, GBX2, Goosecoid, HES-1, HNF-3 알파/FoxA1, c-Jun, KLF2, KLF4, KLF5, c-Maf, Max, MEF2C, MIXL1, MTF2, c-Myc, Nanog, NFkB/IkB 활성화제, NFkB/IkB 억제제, NFkB1, NFkB2, Oct-3/4, Otx2, p53, Pax2, Pax6, PRDM14, Rex-1/ZFP42, SALL1, SALL4, Smad1, Smad2, Smad2/3, Smad3, Smad4, Smad5, Smad8, Snail, SOX2, SOX7, SOX15, SOX17, STAT 활성화제, STAT 억제제, STAT3, SUZ12, TBX6, TCF-3/E2A, THAP11, UTF1, WDR5, WT1, ZNF206, 및 ZNF281이 포함된다.
- [0117] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 유도 만능 줄기세포(iPSC) 전사 인자인 유전자 생성물로부터 유래된다. iPSC 전사 인자의 비제한적인 예에는 KLF2, KLF4, c-Maf, c-Myc, Nanog, Oct-3/4, p53, SOX1, SOX2, SOX3, SOX15, SOX18, 및 TBX18이 포함된다.
- [0118] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 상피 줄기세포 전사 인자인 유전자 생성물로부터 유래된다. 상피 줄기세포 전사 인자의 비제한적인 예에는 ASCL2/Mash2, CDX2, DNMT1, ELF3, Ets-1, FoxM1, FoxN1, GATA-6, Hairless, HNF-4 alpha/NR2A1, IRF6, c-Maf, MITF, Miz-1/ZBTB17, MSX1, MSX2, MYB, c-Myc, 뉴로제닌(Neurogenin)-3, NFATC1, NKX3.1, Nrf2, p53, p63/TP73L, Pax2, Pax3, RUNX1/CBFA2, RUNX2/CBFA1, RUNX3/CBFA3, Smad1, Smad2, Smad2/3, Smad4, Smad5, Smad7, Smad8, Snail, SOX2, SOX9, STAT 활성화제, STAT 억제제, STAT3, SUZ12, TCF-3/E2A, 및 TCF7/TCF1이 포함된다.
- [0119] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 암 줄기세포 전사 인자인 유전자 생성물로부터 유래된다. 암 줄기세포 전사 인자의 비제한적인 예에는 안드로젠 R/NR3C4, AP-2 감마, 베타-카테닌, 베타-카테닌 억제제, 브라키우리, CREB, ER 알파/NR3A1, ER 베타/NR3A2, FoxM1, FoxO3, FRA-1, GLI-1, GLI-2, GLI-3, HIF-1 알파/HIF1A, HIF-2 알파/EPAS1, HMGA1B, c-Jun, JunB, KLF4, c-Maf, MCM2, MCM7, MITF, c-Myc, Nanog, NFkB/IkB 활성화제, NFkB/IkB 억제제, NFkB1, NKX3.1, Oct-3/4, p53, PRDM14, Snail, SOX2, SOX9, STAT 활성화제, STAT 억제제, STAT3, TAZ/WWTR1, TBX3, 트위스트-1, 트위스트-2, WT1, 및 ZEB1이 포함된다.
- [0120] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 암 관련 전사 인자인 유전자 생성물로부터 유래된다. 암 관련 전사 인자의 비제한적인 예에는 ASCL1/Mash1, ASCL2/Mash2, ATF1, ATF2, ATF4, BLIMP1/PRDM1, CDX2, CDX4, DLX5, DNMT1, E2F-1, EGR1, ELF3, Ets-1, FosB/GOS3, FoxC1, FoxC2, FoxF1, GADD153, GATA-2, HMGA2, HMGB1/HMG-1,

HNF-3 알파/FoxA1, HNF-6/ONECUT1, HSF1, ID1, ID2, JunD, KLF10, KLF12, KLF17, LMO2, MEF2C, MYCL1/L-Myc, NFkB2, Oct-1, p63/TP73L, Pax3, PITX2, Prox1, RAP80, Rex-1/ZFP42, RUNX1/CBFA2, RUNX3/CBFA3, SALL4, SCL/Ta11, 시르투인(Sirtuin) 2/SIRT2, Smad3, Smad4, Smad5, SOX11, STAT5a/b, STAT5a, STAT5b, TCF7/TCF1, TORC1, TORC2, TRIM32, TRPS1, 및 TSC22가 포함된다.

[0121] 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 면역 세포 전사 인자인 유전자 생성물로부터 유래된다. 면역 세포 전사 인자의 비제한적 예에는 AP-1, Bcl6, E2A, EBF, Eomes, FoxP3, GATA3, Id2, Ikaros, IRF, IRF1, IRF2, IRF3, IRF3, IRF7, NFAT, NFkB, Pax5, PLZF, PU.1, ROR-감마-T, STAT, STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5, STAT5A, STAT5B, STAT6, T-bet, TCF7, 및 ThPOK가 포함된다.

[0122] 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 RNA 폴리머라제 관련 단백질인 유전자 생성물로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 기본 도메인을 갖는 전사 인자로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 아연 배위 DNA 결합 도메인을 갖는 전사 인자로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 나선-회전-나선 도메인을 갖는 전사 인자로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 알파 나선형 DNA 결합 도메인을 갖는 전사 인자로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 베타 구조에 의해 노출된 알파 나선을 갖는 전사 인자로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 면역글로불린 폴드를 갖는 전사 인자로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 알파/베타-스캐폴드에 의해 노출된 베타-헤어핀을 갖는 전사 인자로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 DNA에 결합하는 베타 시트를 갖는 전사 인자로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 베타 배럴 DNA 결합 도메인을 갖는 전사 인자로부터 유래된다.

[0123] 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 핵 수용체, 예를 들어 핵 호르몬 수용체인 유전자 생성물로부터 유래된다. 핵 호르몬 수용체의 비제한적 예에는 NROB1, NROB2, NR1A1, NR1A2, NR1B1, NR1B2, NR1B3, NR1C1, NR1C2, NR1C3, NR1D1, NR1D2, NR1F1, NR1F2, NR1F3, NR1H4, NR1H5, NR1H3, NR1H2, NR1I1, NR1I2, NR1I3, NR2A1, NR2A2, NR2B1, NR2B2, NR2B3, NR2C1, NR2C2, NR2E1, NR2E3, NR2F1, NR2F2, NR2F6, NR3A1, NR3A2, NR3B1, NR3B2, NR3B3, NR3C 4, NR3C1, NR3C2, NR3C3, NR4A1, NR4A2, NR4A3, NR5A1, NR5A2, 및 NR6A1에 의해 코딩되는 것들이 포함된다.

[0124] 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 뉴클레오솜 조립에 관여하는 유전자 생성물로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 DNA 대사에 관여하는 유전자 생성물로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 뉴클레오티드 대사에 관여하는 유전자 생성물로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 리보솜 생물발생에 관여하는 유전자 생성물로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 단백질 폴딩에 관여하는 유전자 생성물로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 번역에 관여하는 유전자 생성물로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 신호전달에 관여하는 유전자 생성물로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 단백질분해에 관여하는 유전자 생성물로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 이종 유전자 이펙터는 엔도펩티다제 활성의 음성 조절에 관여하는 유전자 생성물로부터 유래된다.

[0125] 일부 실시양태에서, 본원에서 상호교환적으로 사용되는 이종 유전자 이펙터 또는 유전자 조절인자는 표 3에 제공된 임의의 이종 유전자 이펙터 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 실질적으로 약 100%의 서열 동일성을 나타내는 폴리펩티드 서열을 포함할 수 있다.

[0126] 표 3. 이중 유전자 이펙터 아미노산 서열

| 서열번호: | 이중 유전자 이펙터 아미노산 서열 |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| 서열번호: 15 | NNSQGRVTFEDVTNFTQGEWQRLNPEQRNLYRDVMLENYSNLVSVGQGETTKPDVILRLEQKPEWLEEEVLGS GRAEKNGDI |
| 서열번호: 16 | SGHPGSWEMNSVAFEDVAVNFTQEEWALLDPSQKNLYRDVMQETFRNLASIGNKGEDQSIEDQYKNSRNLRHIS HSGNNPYGC |
| 서열번호: 17 | AAATLRTPQTQGVTFEDVAVHFSWEEWGLLDEAQRCLYRDVMLENLALLTSLDVHHQKQLHGEKHFRSNVGRALFV KTCTFHVSG |
| 서열번호: 18 | TTFKEAMTFKDVAVVTEELGLDLAQRKLYRDVMLENFRNLLSVGHQAFHRDTHFLREKIMMMKTAIQREGNS GDKIQTEM |
| 서열번호: 19 | VPAETSSSGLLEEKMMKSQLVSKFDVAVDFTQEEWQQLDPSQRTLYRDVMLENYSHLVSMGYVPVSKPDVSKLE QGEEPWIIK |
| 서열번호: 20 | MKSQGLVSKFDVAVDFTQEEWQQLDPSQRTLYRDVMLENYSHLVSMGYVPVSKPDVSKLEQGEEPWIIKGDISNIWY PDEYQADG |
| 서열번호: 21 | AEGSVMFSDVSDISFQEEWDCLDPVQRDLYRDVMLENYGNLVMGLYTPKQVISLLEQKPEWVMVGRGLRGLCS DLESMCETK |
| 서열번호: 22 | AAAALRDPAPVAADLLTDHEEGYVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKVLTPHPSILSWA RLFLFL |
| 서열번호: 23 | AAAALRDPAPVAADLLTDHEEGYVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKVLTPHPSILSW LESWEEP |
| 서열번호: 24 | AAAALRDPAPVAADLLTDHEEGYVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKWHGAEAE APEQIASVG |
| 서열번호: 25 | AAAALRDPAPQGYVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKWHGAEAEAPEQIASVGLSSN IQHQKQH |
| 서열번호: 26 | AAAALRDPAPVAADLLTDHEEGYVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKVLTPHPSILSW ARLFLF |
| 서열번호: 27 | YVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKWHGAEAEAPEQIASVGLSSN VELREV |
| 서열번호: 28 | AAAALRDPAPQGYVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKWHGAEAEAPEQIASVGLSSN VVTSAIPR |
| 서열번호: 29 | AAAALRDPAPQGYVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKWHGAEAEAPEQIASVGLSSN QQHQKQHC |
| 서열번호: 30 | AAAALRDPAPQGYVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKWHGAEAEAPEQIASVGLSSN EVVTSAIL |
| 서열번호: 31 | AAAALRDPAPVAADLLTDHEEGYVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKWHGAEAE ESWEEPF |
| 서열번호: 32 | VTCALHGRRARLPAQAQPSACPGTFCFSQEERMAAGYLPRWSQELVTFEDVSMDFSQEEWELLEPAQKNLYREVMLEN YRNVSLEA |
| 서열번호: 33 | LVTTFEDVSMDFSQEEWELLEPAQKNLYREVMLENYSNLVFLGIVSKPDLITCLEQGRKPLTMKRNEMIAKPSVSFLQ QPVASSH |
| 서열번호: 34 | KNATIVMSVRRREQSSGEGSLSFEDVAVGFTREEWQFLDQSQKVLVYKEVMLENYINLVISIGYRGTKPDSLKLEQGE PGIAEG |
| 서열번호: 35 | SSGEGSLSFEDVAVGFTREEWQFLDQSQKVLVYKEVMLENYINLVISIGYRGTKPDSLKLEQGEPPGIAEGAAHSQICPD ADFLE |
| 서열번호: 36 | GPLQFRDVAIEFSLEEWHLCLTAQRNLYRNVMLENYINLVFLGIVSKPDLITCLEQGRKPLTMKRNEMIAKPSVSFLQ VHSESQ |
| 서열번호: 37 | GPLQFRDVAIEFSLEEWHLCLTAQRNLYRNVMLENYINLVFLGIVSKPDLITCLEQGRKPLTMKRNEMIAKPSVMCS HFAQDLW |

[0127]

| | |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 서열번호: 38 | APPSAPLPAQGGPKARPSKRGRRRPRALKFVDVAVYFSPEEWGLRPAQRALYRDVMRETYGHLGALGCAGPKPALI SWLERNTD |
| 서열번호: 39 | QTNTKDWTVTPEHVLPEQSLLTFEEVAMVYFSQEEWELLDPTQKALYNDVMQENYETVISLALFLPKPKVISCLEQGE EPWVQV |
| 서열번호: 40 | AAATLRDPAPQGYVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKWHGAEAEAPEQIASVGLSSN EVVTSAIL |
| 서열번호: 41 | AAATLRDPAPQGYVTFEDVAVYFSQEEWRLDDAQRLLYRNVMLENFTLLASLGKWHGAEAEAPEQIASVGLSSN VTSAILR |
| 서열번호: 42 | DSVAFEDVAVNFTQEEWALLDPSQKNLYREVQETLRNLTSGIKKWNQYIEDEHQNPRRNLRLRIGERLSESKESH QHGEVLTQ |

[0128]

[0129]

본원에 개시된 바와 같은 이중 폴리뉴클레오티드는 이중 유전자 이펙터를 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자) 또는 표적 유전자 조절 서열로 지시하기 위한 하나 이상의 가이드 모이어티(예를 들어, 하나 이상의 가이드 핵산 분자)를 포함할 수 있다. 가이드 모이어티는 표적 유전자 또는 표적 유전자 조절 서열을 인식하고 이

에 특이적으로 결합하는 능력을 부여할 수 있다. 가이드 모이어티는 이중 폴리펩티드(예를 들어, CRISPR/Cas 단백질과 같은 뉴클레아제와 복합체를 형성하는 가이드 핵산)와 복합체를 형성하도록 구성될 수 있고, 복합체는 본원에 개시된 바와 같은 표적 폴리펩티드 서열에 대한 특이적 결합을 나타내도록 구성되어, 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 변형 수준을 변형시킬 수 있다.

[0130] 가이드 모이어티는 가이드 핵산을 포함할 수 있다. 가이드 모이어티는 본원에 개시된 바와 같은 뉴클레아제 및 가이드 핵산을 포함할 수 있다. 가이드 모이어티는 뉴클레아제 또는 이의 일부, 예를 들어 이중 엔도뉴클레아제와 같은 엔도뉴클레아제를 포함할 수 있다. 뉴클레아제는 예를 들어 DNA 뉴클레아제 및/또는 RNA 뉴클레아제, 뉴클레아제가 결핍되거나 야생형 뉴클레아제, 이의 유도체, 이의 변이체 또는 이의 단편에 비해 감소된 뉴클레아제 활성을 갖는 변형된 뉴클레아제일 수 있다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 최소한의 뉴클레아제 활성을 갖는다.

[0131] 임의의 적합한 뉴클레아제, 이의 단편 또는 유도체가 가이드 모이어티에 사용될 수 있다. 적합한 뉴클레아제에는 CRISPR 관련(Cas) 단백질 또는 I형 CRISPR 관련(Cas) 폴리펩티드, II형 CRISPR 관련(Cas) 폴리펩티드, III형 CRISPR 관련(Cas) 폴리펩티드, IV형 CRISPR 관련(Cas) 폴리펩티드, V형 CRISPR 관련(Cas) 폴리펩티드, 및 VI형 CRISPR 관련(Cas) 폴리펩티드를 포함한 Cas 뉴클레아제; 아연 핑거 뉴클레아제(ZFN); 전사 활성화 인자 유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN); 메가뉴클레아제; RNA 결합 단백질(RBP); CRISPR 관련 RNA 결합 단백질; 재조합효소; 플립라제; 트랜스포사제; Argonaute(Ago) 단백질(예를 들어, 원핵생물 Argonaute(pAgo), 고세균 Argonaute(aAgo), 및 진핵생물 Argonaute(eAgo)); 임의의 이의 유도체; 임의의 이의 변이체 및 임의의 이의 단편이 포함되지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0132] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 뉴클레아제가 결핍된 조작된(예를 들어, 프로그래밍 가능하거나 표적화 가능한) DNA 뉴클레아제와 같은 DNA 뉴클레아제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 본 개시내용의 하나 이상의 이중 유전자 이펙터와 복합체로 존재하지 않는 한 표적 DNA 서열의 전사 활성화 또는 억제 유도를 하지 않는 DNA 뉴클레아제로부터 유래된 뉴클레아제-무효 DNA 결합 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 표적 DNA 서열의 전사 활성화 또는 억제를 유도할 수 있는 DNA 뉴클레아제로부터 유래된 뉴클레아제-무효 DNA 결합 단백질을 포함한다(예를 들어, 이는 본 개시내용의 이중 유전자 이펙터의 존재에 의해 변경되거나 증강될 수 있다).

[0133] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 조작된(예를 들어, 프로그래밍 가능하거나 표적화 가능한) RNA 뉴클레아제와 같은 RNA 뉴클레아제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 본 개시내용의 하나 이상의 이중 유전자 이펙터와 복합체로 존재하지 않는 한 표적 RNA 서열의 전사 활성화 또는 억제를 유도하지 않는 RNA 뉴클레아제로부터 유래된 뉴클레아제-무효 RNA 결합 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 표적 RNA 서열의 전사 활성화 또는 억제를 유도할 수 있는 RNA 뉴클레아제로부터 유래된 뉴클레아제-무효 RNA 결합 단백질을 포함한다(예를 들어, 이는 본 개시내용의 이중 유전자 이펙터의 존재에 의해 변경되거나 증강될 수 있다).

[0134] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 핵산 안내된 표적화 시스템을 포함한다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 DNA-안내된 표적화 시스템을 포함한다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 RNA-안내된 표적화 시스템을 포함한다. 가이드 모이어티는 예를 들어 CRISPR-Cas 시스템(예를 들어 dCas9와 같은 이의 뉴클레아제 결핍 형태)의 표적 유전자(예를 들어 표적 내인성 유전자) 또는 표적 유전자 조절 서열에 대한 특이적 결합을 촉진하는 가이드 핵산 서열을 포함하고 활용할 수 있다. 결합 특이성은 단일 가이드 RNA(sgRNA) 또는 이의 일부와 같은 가이드 핵산을 사용하여 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 상이한 sgRNA의 사용은 본 개시내용의 조성물 및 방법이 상이한 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자) 또는 표적 유전자 조절 서열과 함께 사용되는(예를 들어, 표적화되는) 것을 허용한다.

[0135] 원핵생물 CRISPR-Cas(클러스터형 규칙적으로 간격을 둔 짧은 회문식 반복부 - CRISPR 관련) 시스템, 예를 들어 Cas9 및 Cpf1과 같은 클래스 II CRISPR-Cas 시스템은 유전자 발현, 후성유전체 편집, 및 본 개시내용의 조성물 및 방법에서의 염색질 루핑 조절용 도구로서 용도에 맞을 수 있다. 이중 유전자 이펙터와 복합체화된 뉴클레아제 불활성화 Cas(dCas) 단백질은 dCas에 의해 결합된 부위에 인접한 표적 유전자(예: 표적 내인성 유전자)의 발현 조절을 허용할 수 있다.

[0136] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 비천연 발생 CRISPR(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)/Cas(CRISPR 관련) 시스템에서 기능하는 CRISPR 관련(Cas) 단백질 또는 Cas 뉴클레아제를 포함한다. 박테리아에서 이 시스템은 외부 DNA에 대한 적응 면역을 제공할 수 있다.

- [0137] 다양한 포유동물, 동물, 식물, 미생물, 및 효모를 포함한 매우 다양한 유기체에서, CRISPR/Cas 시스템(예를 들어, 변형 및/또는 비변형)이 게놈 조작 도구로 활용될 수 있거나, 본원에 개시된 바와 같이 조작된 단백질의 표적 유전자좌에 대한 특이적 결합을 지시하도록 변형될 수 있다. CRISPR/Cas 시스템은 유전자 발현 및/또는 활성 또는 핵산 결합의 표적화된 조절을 위해 Cas 단백질과 복합체화된 가이드 RNA(gRNA)와 같은 가이드 핵산을 포함할 수 있다. RNA-안내된 Cas 단백질(예를 들어, Cas9 뉴클레아제와 같은 Cas 뉴클레아제)은 서열 의존적 방식으로 표적 폴리뉴클레오티드(예를 들어 DNA)에 특이적으로 결합할 수 있다. Cas 단백질은 뉴클레아제 활성을 갖고 있으면, DNA를 절단할 수 있다.
- [0138] 일부 경우에, Cas 단백질은 돌연변이되고/되거나 변형되어 뉴클레아제 결핍 단백질 또는 야생형 Cas 단백질에 비해 뉴클레아제 활성이 감소된 단백질을 생성한다. 뉴클레아제 결핍 단백질은 DNA 결합 능력을 유지할 수 있지만, 핵산 절단 활성이 부족하거나 감소할 수 있다.
- [0139] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 가이드 RNA 또는 이의 일부와 같은 가이드 핵산과 복합체를 형성하는 Cas 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 단일 가이드 RNA(sgRNA)와 같은 단일 가이드 핵산과 복합체를 형성하는 Cas 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 Cas 단백질과 복합체를 형성할 수 있는 가이드 RNA(예를 들어, sgRNA)와 같은 가이드 핵산과 선택적으로 복합체화된 RNA 결합 단백질(RBP)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 표적 DNA 서열의 전사 활성화 또는 억제를 유도할 수 있는 DNA 뉴클레아제로부터 유래된 뉴클레아제-무효 DNA 결합 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 RNA로부터 유래된 뉴클레아제-무효 RNA 결합 단백질을 포함한다.
- [0140] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물 및 방법에 사용되는 가이드 핵산은 예를 들어 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 또는 그 이상의 뉴클레오티드(들)일 수 있다.
- [0141] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물 및 방법에 사용되는 가이드 핵산은 최대 10개, 최대 9개, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개, 또는 최대 1개의 뉴클레오티드(들)이다.
- [0142] 가이드 핵산은 가이드 RNA 또는 이의 일부일 수 있다.
- [0143] 임의의 적합한 CRISPR/Cas 시스템이 사용될 수 있다. CRISPR/Cas 시스템은 다양한 명명 시스템을 사용하여 지칭될 수 있다. CRISPR/Cas 시스템은 유형 I, 유형 II, 유형 III, 유형 IV, 유형 V, 유형 VI 시스템, 또는 기타 적합한 CRISPR/Cas 시스템일 수 있다. 본원에서 사용된 CRISPR/Cas 시스템은 클래스 1, 클래스 2, 또는 기타 적절하게 분류된 CRISPR/Cas 시스템일 수 있다. 클래스 1 또는 클래스 2 결정은 이펙터 모듈을 코딩하는 유전자를 기반으로 할 수 있다. 클래스 1 시스템은 일반적으로 다중 하위 단위 crRNA-이펙터 복합체를 갖는 반면, 클래스 2 시스템은 일반적으로 Cas9, Cpf1, C2c1, C2c2, C2c3 또는 crRNA-이펙터 복합체와 같은 단일 단백질을 갖는다. 클래스 1 CRISPR/Cas 시스템은 다중 Cas 단백질의 복합체를 사용하여 조절을 수행할 수 있다. 클래스 1 CRISPR/Cas 시스템은 예를 들어 유형 I(예: I, IA, IB, IC, ID, IE, IF, IU), 유형 III(예: III, IIIA, IIIB, IIIC, IIID), 및 유형 IV(예: IV, IVA, IVB) CRISPR/Cas 유형을 포함할 수 있다. 클래스 2 CRISPR/Cas 시스템은 단일 대형 Cas 단백질을 사용하여 조절을 수행할 수 있다. 클래스 2 CRISPR/Cas 시스템은 예를 들어 유형 II(예: II, IIA, IIB) 및 유형 V CRISPR/Cas 유형을 포함할 수 있다. CRISPR 시스템은 서로 상보적일 수 있으며/있거나, CRISPR 유전자좌 표적화를 촉진하기 위해 기능 단위를 트랜스로 빌려줄 수 있다.
- [0144] 가이드 모이어티가 Cas 단백질 또는 이의 유도체를 포함하는 경우, Cas 단백질 또는 이의 유도체는 클래스 1 또는 클래스 2 Cas 단백질일 수 있다. Cas 단백질은 I형, II형, III형, IV형, V형 Cas 단백질, 또는 VI형 Cas 단백질일 수 있다. Cas 단백질은 하나 이상의 도메인을 포함할 수 있다. 도메인의 비제한적인 예에는 가이드 핵산 인식 및/또는 결합 도메인, 뉴클레아제 도메인(예: DNase 또는 RNase 도메인, RuvC, HNH), DNA 결합 도메인, RNA 결합 도메인, 헬리카제 도메인, 단백질-단백질 상호작용 도메인, 및 이량체화 도메인이 포함된다. 가이드 핵산 인식 및/또는 결합 도메인은 가이드 핵산과 상호작용할 수 있다. 뉴클레아제 도메인은 핵산 절단을 위한 촉매 활성을 포함할 수 있다. 뉴클레아제 도메인은 핵산 절단을 방지하기 위하여 촉매 활성이 부족할 수 있다. Cas 단백질은 다른 단백질 또는 폴리펩티드에 융합된 키메라 Cas 단백질 또는 이의 단편일 수 있다. Cas 단백질은 예를 들어 다양한 Cas 단백질의 도메인을 포함하는 다양한 Cas 단백질의 키메라일 수 있다.
- [0145] Cas 단백질의 비제한적인 예에는 c2c1, C2c2, c2c3, Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas4, Cas5, Cas5e(CasD), Cash, Cas6e, Cas6f, Cas7, Cas8a, Cas8a1, Cas8a2, Cas8b, Cas8c, Cas9(Csn1 또는 Csx12), Cas10, Cas10d, Cas10, Cas10d, CasF, CasG, CasH, Cpf1, Csy1, Csy2, Csy3, Cse1(CasA), Cse2(CasB), Cse3(CasE),

Cse4(CasC), Csc1, Csc2, Csa5, Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csb1, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx1 5, Csf1, Csf2, Csf3, Csf4, Cul966, Cas13a, Cas13b, Cas13c, Cas13d, Cas13X, Cas13Y, 및 이들의 동족체 또는 변형된 버전이 포함된다.

[0146] 일부 경우에, 본원에 개시된 Cas 단백질은 Cas9 또는 Cas12a가 아닐 수도 있고 그럴 필요도 없다. 본원에 개시된 Cas 단백질은 Cas9 또는 Cas12a에 비해 더 작은 크기를 가질 수 있다. 본원에 개시된 Cas 단백질은 Un1Cas12f1(또는 Cas14a1)로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 본원에 개시된 Cas 단백질은 서열번호: 43의 폴리펩티드 서열과 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 실질적으로 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 본원에 개시된 Cas 단백질은 서열번호: 44의 폴리펩티드 서열과 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 실질적으로 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 본원에 개시된 바와 같이, 서열 번호 43은 Un1Cas12f1(또는 Cas14a1)의 폴리펩티드 서열을 코딩한다. 본원에 개시된 바와 같이, 서열번호: 44는 뉴클레아제 활성이 감소된 Un1Cas12f1의 조작된 변이체를 코딩한다.

[0147] 서열번호: 43(Un1Cas12f1)

```

1 MAKNTITKTL KLRIVRPYNS AEVEKIVADE KNNREKIALE KNKDKVKEAC
51 SKHLKVAAYC TTQVERNACL FCKARKLDDK FYQKLRGQFP DAVFWQEISE
101 IFRQLQKQAA EIYNQSLIEL YEIFIKGKG IANASSVEHY LSDVCYTRAA
151 ELFKNAAIAS GLRSKIKSNF RLKELKNMKS GLPTTKSDNF PIPLVKQKGG
201 QYTGFEISNH NSDFIIKIPF GRWQVKKEID KYRPWEKFD F EQVQKSPKPI
251 SLLLSTQRRK RNKGWSKDEG TEAEIKKVMN GDYQTSYIEV KRGSKIGEKS
301 AWMLNLSIDV PKIDKGVDP S IIGGIDVGVK SPLVCAINNA FSRYSISDND
351 LFHFNKMFMA RRRILLKKNR HKRAGHGAKN KLKPITILTE KSERFRKKLI
401 ERWACEIADF FIKNKVGTVQ MENLESMKRK EDSYFNIRLR GFWPYAEMQN
451 KIEFKLKQYG IEIRKVAPNN TSKTCSKCGH LNMYNFNEYR KKNKFPFKC
501 EKNCFKENAD YNAALNISNP KLKSTKEEP
    
```

[0148]

[0149] 서열번호: 44(Un1Cas12f1의 불활성화된 뉴클레아제 변이체)

```

1 MAKNTITKTL KLRIVRPYNS AEVEKIVADE KNNREKIALE KNKDKVKEAC
51 SKHLKVAAYC TTQVERNACL FCKARKLDDK FYQKLRGQFP DAVFWQEISE
101 IFRQLQKQAA EIYNQSLIEL YEIFIKGKG IANASSVEHY LSRVCYRRAA
151 ELFKNAAIAS GLRSKIKSNF RLKELKNMKS GLPTTKSDNF PIPLVKQKGG
    
```

[0150]

```

201 QYTGFEISNH NSDFIIKIPF GRWQVKKEID KYRPWEKFD F EQVQKSPKPI
251 SLLLSTQRRK RNKGWSKDEG TEAEIKKVMN GDYQTSYIEV KRGSKICEKS
301 AWMLNLSIDV PKIDKGVDP S IIGGIAGVGR SPLVCAINNA FSRYSISDND
351 LFHFNKMFMA RRRILLKKNR HKRAGHGAKN KLKPITILTE KSERFRKKLI
401 ERWACEIADF FIKNKVGTVQ MENLESMKRK EDSYFNIRLR GFWPYAEMQN
451 KIEFKLKQYG IEIRKVAPNN TSKTCSKCGH LNMYNFNEYR KKNKFPFKC
501 EKNCFKENAA YNAALNISNP KLKSTKERP
    
```

[0151]

[0152] Cas 단백질 또는 이의 단편 또는 유도체는 임의의 적합한 유기체로부터 유래될 수 있다. 비제한적인 예에는 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*), 스트렙토코커스 썬모필루스(*Streptococcus thermophilus*), 스트렙토코커스 sp., 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 노카르디오프시스 다손빌레이(*Nocardiosis dassonvillei*), 스트렙토마이세스 프리스티나에 스피랄리스(*Streptomyces pristinae Spiralis*), 스트렙토마이세스 비리도크로모게네스(*Streptomyces viridochromogenes*), 스트렙토마이세스 비리도크로모게네스(*Streptomyces viridochromogenes*), 스트렙토스포란지움 로세움(*Streptosporangium roseum*), 스트렙토스포란지움 로세움, 알리사이클로바쿨러스 아시도칼다리우스(*Alicyclobacillus acidocaldarius*), 바실러스 슈도마이코이데스(*Bacillus pseudomycooides*), 바실러스 셀레니티레두센스(*Bacillus selenitireducens*), 엑시구오박테리움 시비리쿰(*Exiguobacterium sibiricum*), 락토바실러스 델브루에키(*Lactobacillus delbrueckii*), 락토바실러스 살리바리우스(*Lactobacillus salivarius*), 마이크로실라 마리나(*Microscilla marina*), 부르크홀더리아(*Burkholderiales bacterium*), 폴라로모나스 나프 탈레니바란스(*Polaromonas nap hthalenivorans*), 폴라로모나스 sp., 크로코스파에라 왓소니(*Crocospaera watsonii*), 시아노테체(*Cyanothece*) sp., 마이크로시스티스 아에루기노사(*Microcystis aeruginosa*), 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 시네코코커스(*Synechococcus*) sp., 아세토할로비움 아라바티쿰(*Acetohalobium arabaticum*), 암모니펙스 테겐지이(*Ammonifex degensii*), 칼디셀루로스립토르 베스시(*Caldicelulosiruptor becsii*), 칸디다투스 데솔푸디스(*Candidatus*

Desulforudis), 클로스트리디움 보툴리눔(*Clostridium botulinum*), 클로스트리디움 디피실레(*Clostridium difficile*), 파인골디아 마그나(*Fingoldia magna*), 나트라나에로비우스 썬모필루스(*Natranaerobius thermophilus*), 펠로토마쿨룸 썬모프로피온쿰(*Pelotomaculum thermopropionicum*), 애시디티오바실루스 칼두스(*Acidithiobacillus caldus*), 애시디티오바실러스 페로옥시단스(*Acidithiobacillus ferrooxidans*), 알로크로마티움 비노숨(*Allochromatium vinosum*), 마리노박터 sp.(*Marinobacter sp.*), 니트로소코커스 할로필루스(*Nitrosococcus halophilus*), 니트로소코커스 왓소니(*Nitrosococcus watsoni*), 슈도알테로모나스 할로플랑크티스(*Pseudoalteromonas haloplanktis*), 크테도노박터 라세미퍼(*Ktedonobacter racemifer*), 메타노할로비움 에베스티가툼(*Methanohalobium evestigatum*), 아나바에나 바리아빌리스(*Anabaena variabilis*), 노둘라리아 스푸미게나(*Nodularia spumigena*), 노스톡 sp.(*Nostoc sp.*), 아르트로스피라 막시마(*Arthrospira maxima*), 아르트로스피라 플라텐시스(*Arthrospira platensis*), 아르트로스피라 sp.(*Arthrospira sp.*), 린그비아 sp.(*Lyngbya sp.*), 마이크로콜레우스 크토노플라스테스(*Microcoleus chthonoplastes*), 오실라토리아 sp.(*Oscillatoria sp.*), 페트로토가 모빌리스(*Petrotoga mobilis*), 썬모시포 아프리카누스(*Thermosiphon africanus*), 아카리오클로리스 마리나(*Acaryocloris Marina*), 랩토티리키아 샤히이(*Leptotrichia shahii*), 및 프란시셀라 노비시다(*Francisella novicida*)가 포함된다. 일부 양태에서, 유기체는 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*)이다. 일부 양태에서, 유기체는 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)이다. 일부 양태에서, 유기체는 스트렙토코커스 썬모필루스(*Streptococcus thermophilus*)이다.

[0153]

Cas 단백질은 베일로넬라 아티피칼(*Veillonella atypical*), 푸소박테리움 누클레아툼(*Fusobacterium nucleatum*), 필리팩토 알로시스(*Filifactor alocis*), 솔로박테리움 무레이(*Solobacterium moorei*), 코프로코커스 카투스(*Coprococcus catus*), 트레포네마 덴티콜라(*Treponema denticola*), 펩톤니필러스 두에르데니이(*Peptoniphilus duerdenii*), 카테니박테리움 미쥬오카이(*Catenibacterium mitsuokai*), 스트렙토코커스 무탄스(*Streptococcus mutans*), 리스테리아 이노쿠아(*Listeria innocua*), 스태필로코커스 슈딘테르메디우스(*Staphylococcus pseudintermedius*), 아시다미노코커스 인테스티네(*Acidaminococcus intestine*), 올센넬라 울리(*Olsenella uli*), 오에노코커스 키타하라에(*Oenococcus kitaharae*), 비피도박테리움 비피둠(*Bifidobacterium bifidum*), 락토바실러스 람노수스(*Lactobacillus rhamnosus*), 락토바실러스 가세리(*Lactobacillus gasseri*), 피네골디아 마그나(*Fingoldia magna*), 마이코플라스마 모빌레(*Mycoplasma mobile*), 마이코플라스마 갈리셉티쿰(*Mycoplasma gallisepticum*), 마이코플라스마 오비프네우모니아에(*Mycoplasma ovipneumoniae*), 마이코플라스마 카니스(*Mycoplasma canis*), 마이코플라스마 시노비아에(*Mycoplasma synoviae*), 유박테리움 렉탈레(*Eubacterium rectale*), 스트렙토코커스 썬모필러스(*Streptococcus thermophilus*), 유박테리움 돌리쿰(*Eubacterium dolichum*), 락토바실러스 코리니포르미스 하위종(*Lactobacillus coryniformis subsp.*), 토르쿠엔스(*Torquens*), 일리오박터 폴리트로푸스(*Ilyobacter polytropus*), 루미노코커스 알부스(*Ruminococcus albus*), 아케르만시아 무시니필라(*Akkermansia muciniphila*), 아시도썬머스 셀룰로이티쿠스(*Acidothermus cellulolyticus*), 비피도박테리움 롱쿰(*Bifidobacterium longum*), 비피도박테리움 덴티움(*Bifidobacterium dentium*), 코리네박테리움 디프테리아(*Corynebacterium diphtheria*), 엘루시마이크로비움 미누툼(*Elusimicrobium minutum*), 니트라티프락토르살수기니스(*Nitratifractorsalsuginis*), 스페로차에타 글루부스(*Sphaerochaeta globus*), 피브로박터 숙시노게네스(*Fibrobacter succinogenes subsp.*), 숙시노게네스(*Succinogenes*), 박테로이데스 프라질리스(*Bacteroides fragilis*), 카프노사이토포가 오크라세아(*Capnocytophaga ochracea*), 로도모나스 팔루스트리스(*Rhodopseudomonas palustris*), 프레보텔라 미칸스(*Prevotella micans*), 프레보텔라 루미니콜라(*Prevotella ruminicola*), 플라보박테리움 컬럼나레(*Flavobacterium columnare*), 아미노모나스 파우시보란스(*Aminomonas paucivorans*), 로도스피릴룸 루브럼(*Rhodospirillum rubrum*), 칸디다투스 푸니이스피릴룸 마리눔(*Candidatus Puniceispirillum marinum*), 버미네프로박터 아이세니아에(*Verminephrobacter eiseniae*), 랄스토니아 사이지기이(*Ralstonia syzygii*), 디노로세오박터 쉬바에(*Dinoroseobacter shibae*), 아조스피릴룸(*Azospirillum*), 니트로박터 함부르겐시스(*Nitrobacter hamburgensis*), 브라디리조비움(*Bradyrhizobium*), 울리넬라숙시노게네스(*Wolinellasuccinogenes*), 캄필로박터 제주니 하위종(*Campylobacter jejuni subsp. Jejuni*), 헬리코박터 무스텔라(*Helicobacter mustelae*), 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 아시도보락스 에브레우스(*Acidovorax ebreus*), 클로스트리디움 퍼프린겐스(*Clostridium perfringens*), 파르비바쿨룸 라멘티보란스(*Parvibaculum lavamentivorans*), 로즈뷰리아 인테스티니스(*Roseburia enteris*), 네이세리아 수막염(*Neisseria meningitidis*), 파스퇴렐라 멀토시다(*Pasteurella multocida subsp.*), 물토시다(*Multocida*), 슈테렐라 와드스웰렌시스(*Sutterella wadsworthensis*), 프로테오박테리움 레지오넬라 뉴모필라(*proteobacterium, Legionella pneumophila*), 파라수테렐라 엑스레멘티호미니스(*Parasutterella exrementihominis*), 울리넬라 숙시노게네스(*Wolinella succinogenes*), 및 프란시셀라 노비시다(*Francisella novicida*)를 포함하지만 이에 제한되지 않는

다양한 박테리아 종으로부터 유래될 수 있다.

[0154] 본원에서 사용된 Cas 단백질은 Cas 단백질의 야생형 또는 변형된 형태일 수 있다. Cas 단백질은 활성 변이체, 비활성 변이체, 야생형 또는 변형된 Cas 단백질의 단편일 수 있다. Cas 단백질은 Cas 단백질의 야생형 버전에 비해 결실, 삽입, 치환, 변이체, 돌연변이, 융합, 키메라, 또는 이들의 임의의 조합과 같은 아미노산 변화를 포함할 수 있다. Cas 단백질은 야생형 Cas 단백질과 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성 또는 서열 유사성을 갖는 폴리펩티드일 수 있다. Cas 단백질은 야생형 일레의 Cas 단백질과 최대 약 5%, 최대 약 10%, 최대 약 20%, 최대 약 30%, 최대 약 40%, 최대 약 50%, 최대 약 60%, 최대 약 70%, 최대 약 80%, 최대 약 90%, 또는 최대 약 100% 서열 동일성 및/또는 서열 유사성을 갖는 폴리펩티드일 수 있다. 변이체 또는 단편은 야생형 또는 변형된 Cas 단백질 또는 이의 일부와 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성 또는 서열 유사성을 포함할 수 있다. 변이체 또는 단편은 가이드 핵산과 복합체를 이루는 핵산 절단 활성이 결여된 핵산 유전자좌로 표적화될 수 있다.

[0155] Cas 단백질은 DNase 도메인과 같은 하나 이상의 뉴클레아제 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, Cas9 단백질은 RuvC-유사 뉴클레아제 도메인 및/또는 HNH-유사 20 뉴클레아제 도메인을 포함할 수 있다. Cas9의 뉴클레아제 활성 형태인 RuvC 및 HNH 도메인은 각각 이중 가닥 DNA의 다른 가닥을 절단하여 DNA에서 이중 가닥 절단을 만들 수 있다. Cas 단백질은 단 하나의 뉴클레아제 도메인을 포함할 수 있다(예를 들어, Cpf1은 RuvC 도메인을 포함하지만 HNH 도메인이 결여되어 있음). 일부 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 존재하지 않는다. 일부 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 존재하지만 불활성이거나 활성이 감소되거나 최소 수준이다. 일부 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인이 존재하고 활성이다.

[0156] Cas 단백질의 하나 또는 복수의 뉴클레아제 도메인(예를 들어, RuvC, HNH)은 결실되거나 돌연변이되어 더 이상 기능하지 않거나 감소된 뉴클레아제 활성을 포함할 수 있다. 예를 들어, 적어도 2개의 뉴클레아제 도메인(예: Cas9)을 포함하는 Cas 단백질에서, 뉴클레아제 도메인 중 하나가 결실되거나 돌연변이되면, 니카아제로 알려진 생성된 Cas 단백질은 이중 가닥 DNA 내에 있지만 이중 가닥 절단은 아닌 CRISPR RNA(crRNA) 인식 서열에서 단일 가닥 절단을 생성할 수 있다. 이러한 니카아제는 상보적 가닥 또는 비상보적 가닥을 절단할 수 있지만, 둘 다 절단할 수는 없다. Cas 단백질의 모든 뉴클레아제 도메인(예: Cas9 단백질의 RuvC 및 HNH 뉴클레아제 도메인, Cpf1 단백질의 RuvC 뉴클레아제 도메인)이 결실되거나 돌연변이된 경우, 생성된 Cas 단백질은 이중 가닥 DNA의 두 가닥을 절단하는 능력이 감소되거나 전혀 없을 수 있다. Cas9 단백질을 니카아제로 전환할 수 있는 돌연변이의 예는 S. 피오게네스의 Cas9 RuvC 도메인에 있는 D10A(Cas9의 위치 10에서 아스파르테이트가 알라닌으로) 돌연변이이다. S. 피오게네스 유래 Cas9의 HNH 도메인에 있는 H939A(아미노산 위치 839에서 히스티딘이 알라닌으로) 또는 H840A(아미노산 위치 840에서 히스티딘이 알라닌으로)는 Cas9를 니카아제로 전환할 수 있다. Cas9 단백질을 사멸 Cas9로 전환할 수 있는 돌연변이의 예로는 RuvC 도메인의 D10A(Cas9의 위치 10에서 아스파르테이트에서 알라닌으로) 돌연변이와 S. 피오게네스의 Cas9의 HNH 도메인에서 H939A(아미노산 위치 839에서 히스티딘에서 알라닌으로) 또는 H840A(아미노산 위치 840에서 히스티딘에서 알라닌으로)가 있다.

[0157] 뉴클레아제 사멸 Cas 단백질(예를 들어, Un1Cas12f1과 같은 임의의 Cas 단백질로부터 유래된 것)은 단백질의 야생형 버전에 비해 하나 이상의 돌연변이를 포함할 수 있다. 상기 돌연변이는 야생형 Cas 단백질의 복수의 핵산 절단 도메인 중 하나 이상에서 핵산 절단 활성의 90% 이하, 80% 이하, 70% 이하, 60% 이하, 50% 이하, 40% 이하, 30% 이하, 20% 이하, 10% 이하, 5% 이하, 또는 1% 이하를 초래할 수 있다. 상기 돌연변이는 복수의 핵산 절단 도메인 중 하나 이상에서 표적 핵산의 상보적 가닥을 절단하는 능력을 유지하지만 표적 핵산의 비-상보적 가닥을 절단하는 능력을 감소시킬 수 있다. 상기 돌연변이는 복수의 핵산 절단 도메인 중 하나 이상에서 표적 핵산의 상보적 가닥 및 비-상보적 가닥을 절단하는 능력을 결여시킬 수 있다. 뉴클레아제 도메인에서 돌연변이될 잔기는 뉴클레아제의 하나 이상의 촉매 잔기에 해당할 수 있다. 예를 들어, Asp10, His840, Asn854 및 Asn856과 같은 야생형 예시적인 S. 피오게네스 Cas9 폴리펩티드의 잔기는 돌연변이되어 복수의 핵산 절단 도메인(예를 들어, 뉴클레아제 도메인) 중 하나 이상을 불활성화할 수 있다. Cas 단백질의 뉴클레아제 도메인에서 돌연변이될 잔기는 예를 들어 서열 및/또는

구조적 정렬에 의해 결정된 바와 같이 야생형 S. 피오게네스 Cas9 폴리펩티드의 잔기 Asp10, His840, Asn854 및 Asn856에 해당할 수 있다.

- [0158] 비제한적인 예로서, 잔기 D10, G12, G17, E762, H840, N854, N863, H982, H983, A984, D986, 및/또는 A987(또는 임의의 Cas 단백질의 상응하는 돌연변이)은 돌연변이될 수 있다. 예를 들어, D10A, G12A, G17A, E762A, H840A, N854A, N863A, H982A, H983A, A984A, 및/또는 D986A. 알려진 치환 이외의 돌연변이가 적합할 수 있다.
- [0159] D10A 돌연변이는 H840A, N854A, 또는 N856A 돌연변이 중 하나 이상과 조합되어 DNA 절단 활성이 실질적으로 결여된 Cas9 단백질(예를 들어, 사멸 Cas9 단백질)을 생성할 수 있다. H840A 돌연변이는 D10A, N854A, 또는 N856A 돌연변이 중 하나 이상과 조합되어 DNA 절단 활성이 실질적으로 결여된 부위 지정 폴리펩티드를 생성할 수 있다. N854A 돌연변이는 H840A, D10A, 또는 N856A 돌연변이 중 하나 이상과 조합되어 DNA 절단 활성이 실질적으로 결여된 부위 지정 폴리펩티드를 생성할 수 있다. N856A 돌연변이는 H840A, N854A, 또는 D10A 돌연변이 중 하나 이상과 조합되어 DNA 절단 활성이 실질적으로 결여된 부위 지정 폴리펩티드를 생성할 수 있다.
- [0160] 일부 실시양태에서, Cas 단백질은 클래스 2 Cas 단백질이다. 일부 실시양태에서, Cas 단백질은 유형 II Cas 단백질이다. 일부 실시양태에서, Cas 단백질은 Cas9 단백질, Cas9 단백질의 변형된 버전이거나, Cas9 단백질로부터 유래된다. 예를 들어, 절단 활성이 결여된 Cas9 단백질. 일부 실시양태에서, Cas9 단백질은 S. 피오게네스 유래의 Cas9 단백질(예를 들어, SwissProt 수탁 번호 Q99ZW2)이다. 일부 실시양태에서, Cas9 단백질은 S. 아우레우스로부터의 Cas9(예를 들어, SwissProt 수탁 번호 J7RUA5)이다. 일부 실시양태에서, Cas9 단백질은 S. 피오게네스 또는 S. 아우레우스로부터의 Cas9 단백질의 변형된 버전이다. 일부 실시양태에서, Cas9 단백질은 S. 피오게네스 또는 S. 아우레우스의 Cas9 단백질로부터 유래된다. 예를 들어, 절단 활성이 결여된 S. 피오게네스 또는 S. 아우레우스 Cas9 단백질.
- [0161] 일부 실시양태에서, Cas9는 일반적으로 야생형 예시적인 Cas9 폴리펩티드(예를 들어, S. 피오게네스로부터의 Cas9)와 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%의 서열 동일성 및/또는 서열 유사성을 갖는 폴리펩티드를 언급할 수 있다. 일부 실시양태에서, Cas9는 야생형 Cas9 폴리펩티드(예를 들어 S. 피오게네스로부터)와 최대 약 5%, 최대 약 10%, 최대 약 20%, 최대 약 30%, 최대 약 40%, 최대 약 50%, 최대 약 60%, 최대 약 70%, 최대 약 80%, 최대 약 90%, 또는 약 100%의 서열 동일성 및/또는 서열 유사성을 갖는 폴리펩티드를 언급할 수 있다. Cas9는 결실, 삽입, 치환, 변이체, 돌연변이, 융합, 키메라, 또는 이들의 임의의 조합과 같은 아미노산 변화를 포함할 수 있는 Cas9 단백질의 야생형 또는 변형된 형태를 언급할 수 있다.
- [0162] Cas 단백질은 야생형 Cas 단백질의 뉴클레아제 도메인(예를 들어, RuvC 도메인, HNH 도메인)과 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성 또는 서열 유사성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0163] Cas 단백질, 이의 변이체 또는 유도체는 예를 들어 본원에 개시된 복합체의 일부로서, 본 개시내용의 조성물 및 방법에 의해 유전자 발현의 조절을 강화하도록 변형될 수 있다. Cas 단백질은 핵산 결합 친화도, 핵산 결합 특이성, 효소 활성, 및/또는 이중이량체화 또는 올리고머화 도메인과 같은 다른 인자에 대한 결합을 증가시키거나 감소시키고 리간드를 유도하도록 변형될 수 있다. Cas 단백질은 또한 안정성과 같은 단백질의 다른 활성이나 특성을 변경하도록 변형될 수 있다. 예를 들어, Cas 단백질의 하나 이상의 뉴클레아제 도메인은 변형, 삭제 또는 불활성화될 수 있거나, Cas 단백질이 절단되어 단백질 또는 복합체의 원하는 기능에 필수적이지 않은 도메인을 제거할 수 있다. Cas 단백질은 이중 유전자 이펙터를 포함하는 본 개시내용의 복합체에 의해 유전자 발현을 조절하기 위하여 Cas 단백질의 활성을 조절(예를 들어, 향상 또는 감소)하기 위해 변형될 수 있다.
- [0164] 예를 들어, Cas 단백질은 이중 유전자 이펙터(예를 들어 후성적 변형 도메인, 전사 활성화 도메인, 및/또는 전사 억제인자 도메인)에 결합(예를 들어, 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)될 수 있다. Cas 단백질은 본원에 개시된 바와 같은 올리고머화 또는 이량체화 도메인(예를 들어, 이중이량체화 도메인)에 결합(예를 들어, 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)될 수 있다. Cas 단백질은 증가되거나 감소된 안정성을 제공하는 이중 폴리펩티드에 결합(예를 들어, 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)될 수 있다. Cas 단백질은 Cas 단백질 또는 Cas 단백질을 함유하는 복합체, 예를 들어 데그론, 예컨대 유도성 데그론(예를 들어, 옥신 유도성)의 분해를 촉진할 수 있는 서열에 결합(예를 들어 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)될 수 있다.

- [0165] Cas 단백질은 임의의 적합한 수의 파트너, 예를 들어 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개의 파트너와 결합(예를 들어 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 Cas 단백질은 최대 2개, 최대 3개, 최대 4개, 최대 5개, 최대 6개, 최대 7개, 최대 8개, 또는 최대 10개의 파트너에 결합(예를 들어, 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 Cas 단백질은 1 - 5, 1 - 4, 1 - 3, 1 - 2, 2 - 5, 2 - 4, 2 - 3, 3 - 5, 3 - 4, 또는 4 - 5개의 파트너에 결합(예를 들어, 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 Cas 단백질은 1개의 파트너에 결합(예를 들어, 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 Cas 단백질은 2개의 파트너에 결합(예를 들어, 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 Cas 단백질은 3개의 파트너에 결합(예를 들어, 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 Cas 단백질은 4개의 파트너에 결합(예를 들어, 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 Cas 단백질은 5개의 파트너에 결합(예를 들어, 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 Cas 단백질은 6개의 파트너에 결합(예를 들어, 융합, 공유 결합 또는 비공유 결합)된다.
- [0166] Cas 단백질은 융합 단백질일 수 있다. 융합된 도메인 또는 이중 폴리펩티드는 N-말단, C-말단에 위치하거나, Cas 단백질 내부에 위치할 수 있다.
- [0167] Cas 단백질은 임의의 형태로 제공될 수 있다. 예를 들어, Cas 단백질은 Cas 단백질 단독 또는 리보핵단백질로서 가이드 핵산과 복합체를 이루는 등의 단백질 형태로 제공될 수 있다. Cas 단백질은 예를 들어 본 개시내용의 가이드 핵산 및/또는 하나 이상의 이중 유전자 이펙터와 복합체화된 복합체로 제공될 수 있다. Cas 단백질은 Cas 단백질을 코딩하는 핵산, 예를 들어 RNA(예: 메신저 RNA(mRNA)) 또는 DNA의 형태로 제공될 수 있다. Cas 단백질을 코딩하는 핵산은 특정 세포 또는 유기체에서 단백질로 효율적으로 번역되도록 코돈 최적화될 수 있다.
- [0168] Cas 단백질, 단편 또는 이의 유도체를 코딩하는 핵산은 세포의 게놈에 안정적으로 통합될 수 있다. Cas 단백질을 코딩하는 핵산은 프로모터, 예를 들어 세포에서 구성적으로 또는 유도적으로 활성인 프로모터에 작동 가능하게 연결될 수 있다. Cas 단백질을 코딩하는 핵산은 발현 작제물의 프로모터에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 발현 작제물은 유전자 또는 관심 있는 다른 핵산 서열(예를 들어, Cas 유전자)의 발현을 지시할 수 있고 이러한 관심 핵산 서열을 표적 세포로 전달할 수 있는 임의의 핵산 작제물을 포함할 수 있다.
- [0169] 일부 실시양태에서, Cas 단백질, 이의 변이체 또는 유도체는 뉴클레아제 사멸 Cas(dCas) 단백질이다. 사멸 Cas 단백질은 핵산 절단 활성이 결여된 단백질일 수 있다.
- [0170] Cas 단백질은 야생형 Cas 단백질의 변형된 형태를 포함할 수 있다. 야생형 Cas 단백질의 변형된 형태는 Cas 단백질의 핵산 절단 활성을 감소시키는 아미노산 변화(예를 들어, 결실, 삽입 또는 치환)를 포함할 수 있다. 예를 들어, Cas 단백질의 변형된 형태는 야생형 Cas 단백질(예: S. 피오게네스의 Cas9)의 핵산 절단 활성의 90% 이하, 80% 이하, 70% 이하, 60% 이하, 50% 이하, 40% 이하, 30% 이하, 20% 이하, 10% 이하, 5% 이하, 또는 1% 이하를 가질 수 있다. 변형된 형태의 Cas 단백질은 실질적인 핵산 절단 활성을 가질 수 없다. Cas 단백질이 실질적인 핵산 절단 활성이 없는 변형된 형태인 경우, 이는 효소적으로 불활성, "불활성화(활성 상실)" 및/또는 "사멸"(약어로 "d")이라고 할 수 있다. 사멸 Cas 단백질(예: dCas, dCas9)은 표적 폴리뉴클레오티드에 결합할 수 있지만 표적 폴리뉴클레오티드를 절단하지 않거나 최소한으로 절단할 수 있다. 일부 양태에서, 사멸 Cas 단백질은 사멸 Cas9 단백질이다.
- [0171] dCas9 폴리펩티드는 단일 가이드 RNA(sgRNA)와 결합하여 예를 들어, 본원에 개시된 이중 유전자 이펙터(들)와 조합되어, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 전사를 활성화하거나 억제할 수 있다. sgRNA는 본 개시내용의 Cas 또는 가이드 모이어티 성분을 발현하는 세포 내로 도입될 수 있다. 일부 경우에, 이러한 세포는 동일한 표적 유전자(예: 표적 내인성 유전자) 또는 표적 유전자 조절 서열을 표적으로 하는 하나 이상의 서로 다른 sgRNA를 포함할 수 있다. 다른 경우에, sgRNA는 세포 내의 다른 핵산(예를 들어, 다른 표적 유전자, 다른 표적 유전자 조절 서열, 또는 동일한 표적 유전자 또는 표적 유전자 조절 서열 내의 다른 서열)을 표적으로 한다.
- [0172] 효소적 불활성은 서열 특이적 방식으로 폴리뉴클레오티드의 핵산 서열에 결합할 수 있지만, 표적 폴리뉴클레오티드를 절단하지 않거나 실질적으로 감소된 빈도로 절단하는 뉴클레아제를 언급할 수 있다. 효소적으로 불활성인 가이드 모이어티는 효소적으로 불활성인 도메인(예를 들어 뉴클레아제 도메인)을 포함할 수 있다. 효소적으로 불활성은 활성이 없음을 언급할 수 있다. 효소적으로 불활성인 것은 실질적으로 활성이 없음을 언급할 수 있다. 효소적으로 불활성은 본질적으로 활성이 없음을 언급할 수 있다. 효소 불활성은 유사한 야생형 활성(예를

들어, 핵산 절단 활성, 야생형 Cas9 활성)과 비교하여 1% 이하, 2% 이하, 3% 이하, 4% 이하, 5% 이하, 6% 이하, 7% 이하, 8% 이하, 9% 이하, 또는 10% 이하의 활성을 언급할 수 있다.

- [0173] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 핵산 안내된 표적화 시스템을 포함하지 않는다. 예를 들어, 가이드 모이어티에는 표적 유전자(예: 표적 내인성 유전자) 또는 단백질 구조적 특징, 예컨대 본원에 개시된 특정 뉴클레아제에 기초한 표적 유전자 조절 서열에 결합하는 단백질이 포함될 수 있다.
- [0174] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 아연 핑거 뉴클레아제(ZFN) 또는 이의 변이체, 단편 또는 유도체를 포함한다. ZFN은 FokI의 절단 도메인과 같은 절단 도메인과, DNA나 RNA와 같은 폴리뉴클레오타이드와 결합할 수 있는 적어도 하나의 아연 핑거 모티프(예를 들어, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 아연 핑거 모티프) 사이의 융합을 언급할 수 있다. 일부 실시양태에서, ZFN은 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 표적 유전자 또는 표적 유전자 조절 서열)에 결합하기 위해 본 개시내용의 표적화 모이어티에서 사용되지만, ZFN은 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어 뉴클레아제 사멸 ZFN을 절단하지 않거나 실질적으로 절단하지 않는다. ZFN 또는 이의 변이체, 단편 또는 유도체는 하나 이상의 이중 유전자 이펙터에 융합되거나 회합되어 본 개시내용의 복합체를 형성할 수 있다.
- [0175] 특정 배향 및 간격으로 2개의 개별 ZFN의 폴리뉴클레오타이드의 특정 위치에서의 이중이량체화는 뉴클레아제 활성 ZFN에서 폴리뉴클레오타이드의 절단을 초래할 수 있다. 예를 들어, DNA에 결합하는 ZFN은 DNA에서 이중 가닥 절단을 유도할 수 있다. 2개의 절단 도메인이 DNA를 이량체화하고 절단할 수 있도록 하기 위해, 2개의 개별 ZFN은 특정 거리에서 떨어져 있는 C-말단을 사용하여 반대쪽 DNA 가닥에 결합할 수 있다. 일부 경우에, 아연 핑거 도메인과 절단 도메인 사이의 링커 서열은 각 결합 부위의 5' 가장자리가 약 5-7개의 염기쌍만큼 분리되어야 할 수 있다. 일부 경우에는, 절단 도메인이 각 아연 핑거 도메인의 C-말단에 융합된다.
- [0176] 일부 실시양태에서, ZFN을 포함하는 가이드 모이어티의 절단 도메인은 야생형 절단 도메인의 변형된 형태를 포함한다. 절단 도메인의 변형된 형태는 절단 도메인의 핵산 절단 활성을 감소시키는 아미노산 변화(예를 들어, 결실, 삽입 또는 치환)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 절단 도메인의 변형된 형태는 상응하는 야생형 절단 도메인의 핵산 절단 활성의 90% 이하, 80% 이하, 70% 이하, 60% 이하, 50% 이하, 40% 이하, 30% 이하, 20% 이하, 10% 이하, 5% 이하, 또는 1% 이하를 가질 수 있다. 상기 절단 도메인의 변형된 형태는 실질적인 핵산 절단 활성을 가질 수 없다. 일부 실시양태에서, 절단 도메인은 효소적으로 불활성이다.
- [0177] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 "TALEN" 또는 "TAL-이펙터 뉴클레아제" 또는 이의 변이체, 단편 또는 유도체를 포함한다. TALEN은 일반적으로 DNA 결합 나란한 반복부의 중앙 도메인과 절단 도메인을 포함하는 조작된 전사 활성인자 유사 이펙터 뉴클레아제를 언급한다. TALEN은 TAL 이펙터 DNA 결합 도메인을 DNA 절단 도메인에 융합시켜 생산될 수 있다. 일부 경우에, DNA 결합 나란한 반복부는 33-35개의 아미노산 길이를 포함하고 적어도 하나의 특정 DNA 염기쌍을 인식할 수 있는 위치 12 및 13에 2개의 초가변 아미노산 잔기를 포함한다. 전사 활성화제 유사 이펙터(TALE) 단백질은 야생형 또는 돌연변이된 Fok1 엔도뉴클레아제 또는 Fok1의 촉매 도메인과 같은 뉴클레아제에 융합될 수 있다. 일부 실시양태에서, TALEN은 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, 표적 유전자 또는 표적 유전자 조절 서열)에 결합하기 위해 본 개시내용의 표적화 모이어티에 사용되지만, TALEN은 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, 뉴클레아제 사멸 TALEN을 절단하지 않거나 실질적으로 절단하지 않는다. TALEN 또는 이의 변이체, 단편, 또는 유도체는 하나 이상의 이중 유전자 이펙터에 융합되거나 회합되어 본 개시내용의 복합체를 형성할 수 있다.
- [0178] 일부 실시양태에서, TALEN은 감소된 뉴클레아제 활성을 위해 조작된다. 일부 실시양태에서, TALEN의 뉴클레아제 도메인은 야생형 뉴클레아제 도메인의 변형된 형태를 포함한다. 뉴클레아제 도메인의 변형된 형태는 뉴클레아제 도메인의 핵산 절단 활성을 감소시키는 아미노산 변화(예를 들어, 결실, 삽입 또는 치환)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 뉴클레아제 도메인의 변형된 형태는 야생형 뉴클레아제 도메인의 핵산 절단 활성의 90% 이하, 80% 이하, 70% 이하, 60% 이하, 50% 이하, 40% 이하, 30% 이하, 20% 이하, 10% 이하, 5% 이하, 또는 1% 이하를 가질 수 있다. 뉴클레아제 도메인의 변형된 형태는 실질적인 핵산 절단 활성을 가질 수 없다. 일부 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 효소적으로 불활성이다. TALEN 또는 이의 변이체, 단편, 또는 유도체는 하나 이상의 이중 유전자 이펙터에 융합되거나 회합되어 본 개시내용의 복합체를 형성할 수 있다.
- [0179] TALEN에서의 사용을 위해 Fok1에 대한 여러 돌연변이가 만들어졌으며, 이는 예를 들어 절단 특이성 또는 활성을 향상시킨다. 이러한 TALEN은 임의의 원하는 DNA 서열에 결합하도록 조작될 수 있다. TALEN은 표적 DNA 서열에 이중 가닥 절단을 생성하여 유전자 변형(예: 핵산 서열 편집)을 생성하는 데 사용될 수 있으며, 이는 결국 NHEJ 또는 HDR을 겪게 된다.

- [0180] TALE 또는 이의 변이체, 단편, 또는 유도체는 하나 이상의 이중 유전자 이펙터에 융합되거나 회합되어 본 개시 내용의 복합체를 형성할 수 있다. 일부 실시양태에서, 전사 활성인자 유사 이펙터(TALE) 단백질은 이중 유전자 이펙터에 융합되고 뉴클레아제를 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, TALEN은 폴리뉴클레오티드, 예를 들어 뉴클레아제 사멸 TALE를 절단하지 않거나 실질적으로 절단하지 않는다. TALE 또는 이의 변이체, 단편, 또는 유도체는 하나 이상의 이중 유전자 이펙터에 융합되거나 회합되어 본 개시내용의 복합체를 형성할 수 있다.
- [0181] 일부 실시양태에서, 전사 활성인자 유사 이펙터(TALE) 단백질과 이중 유전자 이펙터의 복합체는 전사 활성인자로서 기능하도록 설계된다. 일부 실시양태에서, 전사 활성인자 유사 이펙터(TALE) 단백질과 이중 유전자 이펙터의 복합체는 전사 억제인자로서 기능하도록 설계된다. 예를 들어, 전사 활성인자 유사 이펙터(TALE) 단백질의 DNA-결합 도메인은 전사 활성화 도메인을 포함하는 하나 이상의 이중 유전자 이펙터, 또는 전사 억제 도메인을 포함하는 하나 이상의 이중 유전자 이펙터에 융합(예를 들어, 연결)될 수 있다.
- [0182] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 메가뉴클레아제를 포함한다. 메가뉴클레아제는 일반적으로 서열 특이성이 매우 높은 회귀 절단 엔도뉴클레아제 또는 호밍 엔도뉴클레아제를 언급한다. 메가뉴클레아제는 적어도 12개의 염기쌍 길이, 예를 들어 12~40개의 염기쌍, 12~50개의 염기쌍, 또는 12~60개의 염기쌍 길이 범위의 DNA 표적 부위를 인식할 수 있다. 메가뉴클레아제는 엔도뉴클레아제의 적어도 하나의 촉매 도메인과 적어도 하나의 DNA 결합 도메인 또는 핵산 표적 서열을 지정하는 단백질을 포함하는 임의의 융합 단백질과 같은 모듈식 DNA-결합 뉴클레아제일 수 있다. DNA 결합 도메인은 단일 가닥 또는 이중 가닥 DNA를 인식하는 모티프를 적어도 하나 포함할 수 있다. 뉴클레아제 활성 메가뉴클레아제는 이중 가닥 절단을 생성할 수 있다. 일부 실시양태에서, 메가뉴클레아제는 폴리뉴클레오티드(예를 들어, 표적 유전자 또는 표적 유전자 조절 서열)에 결합하기 위해 본 개시 내용의 표적화 모이어티에 사용되지만, 메가뉴클레아제는 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어 뉴클레아제 사멸 메가뉴클레아제를 절단하지 않거나 실질적으로 절단하지 않는다. 메가뉴클레아제 또는 이의 변이체, 단편 또는 유도체는 하나 이상의 이중 유전자 이펙터에 융합되거나 회합되어 본 개시내용의 복합체를 형성할 수 있다.
- [0183] 메가뉴클레아제는 단량체성 또는 이량체성일 수 있다. 일부 실시양태에서, 메가뉴클레아제는 자연 발생(자연에서 발견됨) 또는 야생형이고, 다른 경우에, 메가뉴클레아제는 비천연, 인공, 조작, 합성, 합리적으로 설계되거나 인위적으로 제조된 것이다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 메가뉴클레아제는 I-CreI 메가뉴클레아제, I-CeuI 메가뉴클레아제, I-MsoI 메가뉴클레아제, I-SceI 메가뉴클레아제, 이들의 변이체, 이들의 유도체, 및 이들의 단편이 포함된다.
- [0184] 일부 실시양태에서, 메가뉴클레아제의 뉴클레아제 도메인은 야생형 뉴클레아제 도메인의 변형된 형태를 포함한다. 뉴클레아제 도메인의 변형된 형태는 뉴클레아제 도메인의 핵산 절단 활성을 감소시키거나 제거하는 아미노산 변화(예를 들어, 결실, 삽입 또는 치환)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 뉴클레아제 도메인의 변형된 형태는 야생형 뉴클레아제 도메인의 핵산 절단 활성의 90% 이하, 80% 이하, 70% 이하, 60% 이하, 50% 이하, 40% 이하, 30% 이하, 20% 이하, 10% 이하, 5% 이하, 또는 1% 이하를 가질 수 있다. 뉴클레아제 도메인의 변형된 형태는 실질적인 핵산 절단 활성을 가질 수 없다. 일부 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 효소적으로 불활성이다. 일부 실시양태에서, 메가뉴클레아제는 DNA에 결합할 수 있지만 DNA를 절단할 수는 없다. 일부 실시양태에서, 뉴클레아제-불활성 메가뉴클레아제는 하나 이상의 이중 유전자 이펙터와 융합되거나 회합되어 본 개시내용의 복합체를 생성한다.
- [0185] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현 및/또는 활성을 조절할 수 있다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티는 핵산(예를 들어, 유전자 및/또는 유전자 생성물)의 서열을 편집할 수 있다. 뉴클레아제 활성 Cas 단백질은 표적 폴리뉴클레오티드에서 이중 가닥 절단 또는 단일 가닥 절단을 생성하여 핵산 서열을 편집할 수 있다.
- [0186] 일부 실시양태에서, 뉴클레아제를 포함하는 가이드 모이어티는 DNA와 같은 표적 폴리뉴클레오티드에서 이중 가닥 절단을 생성할 수 있다. DNA의 이중 가닥 절단은 유전자 변형(예: 핵산 편집)의 도입을 허용하는 DNA 절단 복구를 초래할 수 있다. 일부 실시양태에서, 뉴클레아제는 부위 특이적 단일 가닥 DNA 절단 또는 홈집을 유도하여 HDR을 초래한다.
- [0187] DNA의 이중 가닥 절단은 유전자 변형(들)(예를 들어, 핵산 편집)의 도입을 허용하는 DNA 절단 복구를 초래할 수 있다. DNA 절단 복구는 NHEJ(비상동 말단 결합) 또는 HDR(상동성 지시된 복구)을 통해 발생할 수 있다. HDR에서, 표적 DNA의 상동성 암 측면 부위를 포함하는 공여자 DNA 복구 주형 또는 주형 폴리뉴클레오티드가 제공될 수 있다.

- [0188] 일부 실시양태에서, 뉴클레아제를 포함하는 가이드 모이어티 또는 복합체는 DNA와 같은 표적 폴리뉴클레오티드에서 이중 가닥 절단을 생성하지 않는다.
- [0189] III. 복합체
- [0190] 일부 양태에서, 이중 폴리펩티드 및 이중 폴리뉴클레오티드를 포함하는 하나 이상의 복합체가 본원에 개시된다. 일부 경우에, 복합체는 이중 유전자 이펙터 및 가이드 모이어티, 예를 들어 가이드 핵산 및/또는 절단 활성이 결합되거나 실질적으로 결합된 엔도뉴클레아제와 같은 뉴클레아제를 포함할 수 있다.
- [0191] 본 개시내용의 복합체는 예를 들어 하나 이상의 이중 유전자 이펙터를 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자) 또는 표적 유전자 조절 서열과 근접하게 하여, 표적 유전자의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 조절을 촉진하는데 유용할 수 있다.
- [0192] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 복합체는 DNA, 예를 들어 게놈 DNA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 복합체는 RNA, 예를 들어 mRNA, 마이크로RNA, siRNA, 또는 비-코딩 RNA에 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 복합체는 DNA 및 RNA에 결합한다.
- [0193] 일부 실시양태에서, 복합체는 폴리뉴클레오티드 서열(예를 들어, 프로모터, 인핸서, 억제인자, 액추에이터, 또는 사일렌서, 절연체, 시스-조절 요소, 트랜스-조절 요소, 후성적 변형(예: DNA 메틸화) 부위, 코딩 서열)의 물리적 방해에 의해 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현 및/또는 활성을 조절(예를 들어, 증가 또는 감소)할 수 있다.
- [0194] 일부 실시양태에서, 복합체는 표적 유전자의 발현을 억제하거나 향상시키는 데 효과적인 추가 인자를 모집함으로써 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현 및/또는 활성을 조절(예를 들어, 증가 또는 감소)할 수 있다.
- [0195] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 복합체는 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자) 또는 표적 유전자 조절 서열(예를 들어, 프로모터, 인핸서, 사일렌서, 절연체, 시스-조절 요소, 트랜스-조절 요소 또는 후성적 변형(예: DNA 메틸화) 부위)에 후성적 변형을 도입하기 위해 사용된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 복합체는 표적 유전자 또는 표적 유전자 조절 서열(예를 들어, 표적 유전자로부터 원위 또는 근위 유전자)을 포함하는 3차원 구조, 위상학적으로 연관된 도메인, 또는 게놈 경계를 생성하는 데 사용된다.
- [0196] 일부 실시양태에서, 복합체는 이중 유전자 이펙터 및 가이드 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 1개의 이중 유전자 이펙터 및 1개의 가이드 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 2개의 이중 유전자 이펙터 및 1개의 가이드 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 3개 이상의 이중 유전자 이펙터 및 1개의 가이드 모이어티를 포함한다.
- [0197] 일부 실시양태에서, 복합체는 이중 유전자 이펙터 및 가이드 핵산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 1개의 이중 유전자 이펙터 및 1개의 가이드 핵산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 2개의 이중 유전자 이펙터 및 1개의 가이드 핵산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 복합체는 3개 이상의 이중 유전자 이펙터 및 1개의 가이드 핵산을 포함한다.
- [0198] 복합체에 존재하는 2개의 성분은 공유적으로 결합될 수 있으며, 예를 들어 융합 단백질에 존재하거나 가교결합될 수 있으며, 예를 들어 가교제로 처리되거나 본원에 개시된 바와 같은 펩티드 또는 비펩티드 링커에 의해 결합될 수 있다.
- [0199] 일부 실시양태에서, 복합체에 존재하는 두 성분은 동일한 융합 단백질의 일부이다. 구성요소는 선택적으로 펩티드 링커 또는 비펩티드 링커와 같은 링커에 의해 연결될 수 있다.
- [0200] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티 또는 이의 일부(예를 들어, dCas9와 같은 뉴클레아제)는 링커에 의해 이중 유전자 이펙터에 연결된다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티 또는 이의 일부는 동일하거나 상이한 제2 링커에 의해 제2 이중 유전자 이펙터에 추가로 연결된다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티 또는 이의 일부(예를 들어, 뉴클레아제, 예컨대 dCas9)는 링커 없이 이중 유전자 이펙터에 융합된다.
- [0201] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티 또는 이의 일부(예: dCas9와 같은 뉴클레아제)는 링커에 의해 올리고머화 도메인 또는 이량체화(예: 이중이량체화) 도메인에 연결된다. 일부 실시양태에서 가이드 모이어티 또는 이의 일부는 동일하거나 상이한 제2 링커에 의해 제2 올리고머화 도메인 또는 이량체화(예를 들어, 이중이량체화) 도메인에 추가로 연결된다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티 또는 이의 일부(예를 들어, 뉴클레아제, 예컨대

dCas9)는 링커 없이 제2 올리고머화 도메인 또는 이량체화(예를 들어, 이중이량체화) 도메인에 융합된다.

- [0202] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 링커에 의해 제2 이중 유전자 이펙터에 연결된다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 동일하거나 상이한 제2 링커에 의해 제3 이중 유전자 이펙터에 추가로 연결된다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 링커 없이 제2 이중 유전자 이펙터에 융합된다.
- [0203] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 링커에 의해 올리고머화 도메인 또는 이량체화(예를 들어, 이중이량체화) 도메인에 연결된다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 동일하거나 상이한 제2 링커에 의해 제2 올리고머화 도메인 또는 이량체화(예를 들어, 이중이량체화) 도메인에 추가로 연결된다. 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 링커 없이 제2 올리고머화 도메인 또는 이량체화(예를 들어, 이중이량체화) 도메인에 융합된다.
- [0204] 임의의 적합한 링커가 사용될 수 있다. 유연한 링커는 글리신과 세린 잔기의 스트레치를 포함하는 서열을 가질 수 있다. 글리신과 세린 잔기의 작은 크기는 유연성을 제공하고, 연결된 기능성 도메인의 이동성을 허용한다. 세린 또는 트레오닌의 결합은 물 분자와 수소 결합을 형성하여 링커와 단백질 모이어티 사이의 불리한 상호 작용을 줄여, 수용액에서 링커의 안정성을 유지할 수 있다. 유연한 링커에는 유연성을 유지하기 위해 트레오닌 및 알라닌과 같은 추가 아미노산뿐만 아니라 용해도를 향상시키기 위해 라이신 및 글루타민과 같은 극성 아미노산도 포함될 수 있다. 강성 링커는 예를 들어 알파 나선 구조를 가질 수 있다. 알파-나선형 강성 링커는 단백질 도메인 사이의 스페이서 역할을 할 수 있다.
- [0205] 링커 서열은 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50개의 아미노산 잔기 길이일 수 있다.
- [0206] 일부 실시양태에서, 링커는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 5개, 적어도 7개, 적어도 9개, 적어도 11개, 적어도 13개, 적어도 15개, 또는 적어도 20개 아미노산이다. 일부 실시양태에서, 링커는 최대 5개, 최대 7개, 최대 9개, 최대 11개, 최대 13개, 최대 15개, 최대 20개, 최대 25개, 최대 30개, 최대 40개, 또는 최대 50개의 아미노산이다.
- [0207] 일부 실시양태에서, 비펩티드 링커가 사용된다. 비펩티드 링커는 예를 들어 화학적 링커일 수 있다. 본 개시내용의 복합체의 두 부분은 화학적 링커에 의해 연결될 수 있다. 본 개시내용의 각각의 화학적 링커는 알킬렌, 알케닐렌, 헤테로알킬렌, 사이클로알킬렌, 헤테로사이클로알킬렌, 아릴렌, 또는 헤테로아릴렌일 수 있으며, 이들 중 임의의 것은 선택적으로 치환된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 화학적 링커는 에스테르, 에테르, 아미드, 티오에테르, 또는 폴리에틸렌글리콜(PEG)일 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는, 예를 들어 링커에 의해 연결된 아미노산 서열이 머리 대 꼬리가 아닌 머리 대 머리가 되도록 화합물 내 아미노산 서열의 순서를 역전시킬 수 있다. 이러한 링커의 비제한적 예에는 옥살릴 디에스테르, 말로닐 디에스테르, 숙시닐 디에스테르, 글루타릴 디에스테르, 아디필 디에스테르, 피메틸 디에스테르, 푸마릴 디에스테르, 말레일 디에스테르, 프탈릴 디에스테르, 이소프탈릴 디에스테르, 및 테레프탈릴 디에스테르와 같은 디카르복실산의 디에스테르가 포함된다. 이러한 링커의 비제한적인 예에는 옥살릴 디아미드, 말로닐 디아미드, 숙시닐 디아미드, 글루타릴 디아미드, 아디필 디아미드, 피메틸 디아미드, 푸마릴 디아미드, 말레일 디아미드, 프탈릴 디아미드, 이소프탈릴 디아미드, 및 테레프탈릴 디아미드와 같은 디카르복실산의 디아미드가 포함된다. 이러한 링커의 비제한적인 예에는 예를 들어 에틸렌 디아민, 1,2-디(메틸아미노)에탄, 1,3-디아미노프로판, 1,3-디(메틸아미노)프로판, 1,4-디(메틸아미노)부탄, 1,5-디(메틸아미노)펜탄, 1,6-디(메틸아미노)헥산, 및 피피리진과 같은 디아미노 링커의 디아미드가 포함된다. 선택적 치환기의 비제한적 예에는 하이드록실 기, 술포하이드릴 기, 할로젠, 아미노 기, 니트로 기, 니트로소 기, 시아노 기, 아지도 기, 술폭사이드 기, 술폰 기, 술폰아미드 기, 카르복실 기, 카르복스알데하이드 기, 이민 기, 알킬 기, 할로-알킬 기, 알케닐 기, 할로-알케닐 기, 알키닐 기, 할로-알키닐 기, 알콕시 기, 아릴 기, 아릴옥시 기, 아르알킬 기, 아릴알콕시 기, 헤테로사이클릴 기, 아실 기, 아실옥시 기, 카바메이트 기, 아미드 기, 우레이도 기, 에폭시 기, 및 에스테르 기가 포함된다.
- [0208] 복합체에 존재하는 두 성분은 예를 들어 이온 결합, 수소 결합, 본원에 개시된 올리고머화 또는 이량체화 도메인에 의해 매개되는 상호작용 등에 의해 비공유적으로 결합될 수 있다.
- [0209] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티 또는 이의 일부(예를 들어, dCas9와 같은 뉴클레아제)는 비공유 결합에 의해 이중 유전자 이펙터에 연결된다. 일부 실시양태에서 가이드 모이어티 또는 이의 일부는 비공유 결합에 의해 제2의 이중 유전자 이펙터에 추가로 연결된다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티 또는 이의 일부는 제1 이중

유전자 이펙터에 공유적으로(예를 들어, 융합 단백질로서, 선택적으로 링커와 함께) 연결되고, 가이드 모이어티 또는 이의 일부는 비-공유 결합에 의해 추가로 제2의 이중 유전자 이펙터에 연결된다.

[0210] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티 또는 이의 일부(예를 들어, dCas9와 같은 뉴클레아제)는 비-공유 결합에 의해 올리고머화 도메인 또는 이량체화(예를 들어 이중이량체화) 도메인에 연결된다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티 또는 이의 일부는 비-공유 결합에 의해 제2 올리고머화 도메인 또는 이량체화(예를 들어, 이중이량체화) 도메인에 추가로 연결된다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티 또는 이의 일부(예를 들어, 뉴클레아제, 예컨대 dCas9)는 공유 결합에 의해(예를 들어, 융합되고, 선택적으로 링커에 의해) 제1 올리고머화 도메인 또는 이량체화(예를 들어, 이중이량체화) 도메인에 융합되고, 비-공유 결합에 의해 제2의 올리고머화 도메인 또는 이량체화(예: 이중이량체화) 도메인에 연결된다.

[0211] 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티의 제1 성분(예를 들어, 가이드 핵산)은 가이드 모이어티의 제2 성분(예를 들어, 뉴클레아제)에 비공유적으로 연결된다. 일부 실시양태에서, 가이드 모이어티의 제1 성분(예를 들어, 가이드 핵산)은 가이드 모이어티의 제2 성분(예를 들어, 뉴클레아제)에 공유적으로 연결된다.

[0212] 공유 및 비공유 결합의 임의의 조합이 본 개시내용의 복합체에 사용될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 이중 유전자 이펙트는 가이드 모이어티에 비공유적으로 융합될 수 있고, 하나 이상의 올리고머화 도메인은 복합체의 구성요소(예: 뉴클레아제)에 공유적으로 결합된다.

[0213] 일부 실시양태에서, 증가된 또는 감소된 안정성을 제공하는 폴리펩티드는 본 개시내용의 복합체의 구성요소, 예를 들어 가이드 모이어티 또는 이중 유전자 이펙터에 융합되거나 달리 회합된다. 융합된 폴리펩티드는 N-말단, C-말단에 위치하거나, 융합 단백질 내부에 위치할 수 있다.

[0214] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 복합체의 하나 이상의 구성요소는 바람직한 세포화 국소화를 지시하는 도메인, 예를 들어 핵 국소화 신호 또는 내부 핵막, 외부 핵막, 카잘체, 핵반점, 핵공복합체, PML체, 핵소체, P과립, GW체, 스트레스과립, 해면체, 소포체, 미토콘드리아 등에 표적화하기 위한 단백질에 융합된다.

[0215] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 복합체는 제1 올리고머화(예를 들어, 이량체화) 도메인에 연결된 제1 단백질, 및 제2 올리고머화(예를 들어, 이량체화) 도메인에 연결된 제2 단백질을 포함한다. 일부 실시양태에서, 올리고머화 도메인 또는 이량체화 도메인은 펩티드 상호작용 도메인, 예를 들어, sgRNA2.0, SAM, SunTag, RAB, FLAG-비오틴, 또는 본원에 개시된 유도성 올리고머화(예를 들어, 이량체화) 시스템을 활용하는 시스템을 포함할 수 있다.

[0216] **운반**

[0217] 본원에 개시된 바와 같은 임의의 이중 폴리펩티드(예를 들어, 이중 유전자 이펙터) 및 이에 작동가능하게 결합된 임의의 추가 분자(예를 들어, 하나 이상의 가이드 핵산 분자와 같은 이중 폴리뉴클레오티드)를 코딩하는 하나 이상의 유전자는, 표적 유전자의 비정상적인 발현이 변형될 세포의 계놈에 통합될 수 있다. 대안적으로, 하나 이상의 유전자는 세포의 계놈에 통합되지 않을 수도 있고 통합될 필요도 없다.

[0218] 임의의 이중 폴리펩티드(예를 들어, 이중 유전자 이펙터) 및 이에 작동가능하게 결합된 임의의 추가 분자(예를 들어, 하나 이상의 가이드 핵산 분자와 같은 이중 폴리뉴클레오티드)가 다양한 방법, 예를 들어 바이러스 및 비바이러스 운반 방법으로 세포에 도입(예를 들어, 운반, 발현 등)된다. 바이러스 벡터 운반 시스템에는 세포로 운반된 후 에피솜 또는 통합된 계놈을 가질 수 있는 DNA 및 RNA 바이러스가 포함될 수 있다. 비바이러스 벡터 운반 시스템에는 DNA 플라스미드, RNA(예를 들어, 본원에 설명된 벡터의 전사체), 네이키드 핵산, 및 리포솜과 같은 운반 비히클과 복합체를 형성한 핵산이 포함될 수 있다.

[0219] RNA 또는 DNA 바이러스 기반 시스템은 특정 세포를 표적으로 하고 바이러스 페이로드를 세포의 핵으로 이동시키는 데 사용될 수 있다. 바이러스 벡터는 시험관 내에서 세포를 치료하는 데 사용될 수 있으며, 변형된 세포는 선택적으로 투여될 수 있다(생체 외). 대안적으로, 바이러스 벡터는 대상체에게 직접적으로(생체내) 투여될 수 있다. 바이러스 기반 시스템에는 유전자 전달을 위한 레트로바이러스, 렌티바이러스, 아데노바이러스, 아데노관련 및 단순 포진 바이러스 벡터가 포함될 수 있다. 레트로바이러스, 렌티바이러스, 아데노관련 바이러스 유전자 전달 방법을 사용하면 숙주 계놈에 통합될 수 있으며, 이로 인해 삽입된 이식유전자가 장기간 발현될 수 있다.

[0220] 이중 폴리펩티드 및/또는 이중 폴리뉴클레오티드(또는 이를 코딩하는 하나 이상의 유전자)를 운반하는 데 사용될 수 있는 바이러스 벡터의 비제한적 예에는 레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터,

폭스바이러스 벡터, 헤르페스바이러스 벡터, 아데노 관련 바이러스(AAV) 벡터가 포함되지만 이에 제한되지 않는다. AAV 벡터의 비제한적 예에는 AAV1, AAV10, AAV106.1/hu.37, AAV11, AAV114.3/hu.40, AAV12, AAV127.2/hu.41, AAV127.5/hu.42, AAV128.1/hu.43, AAV128.3/hu.44, AAV130.4/hu.48, AAV145.1/hu.53, AAV145.5/hu.54, AAV145.6/hu.55, AAV16.12/hu.11, AAV16.3, AAV16.8/hu.10, AAV161.10/hu.60, AAV161.6/hu.61, AAV1-7/rh.48, AAV1-8/rh.49, AAV2, AAV2.5T, AAV2-15/rh.62, AAV223.1, AAV223.2, AAV223.4, AAV223.5, AAV223.6, AAV223.7, AAV2-3/rh.61, AAV24.1, AAV2-4/rh.50, AAV2-5/rh.51, AAV27.3, AAV29.3/bb.1, AAV29.5/bb.2, AAV2G9, AAV-2-pre-miRNA-101, AAV3, AAV3.1/hu.6, AAV3.1/hu.9, AAV3-11/rh.53, AAV3-3, AAV33.12/hu.17, AAV33.4/hu.15, AAV33.8/hu.16, AAV3-9/rh.52, AAV3a, AAV3b, AAV4, AAV4-19/rh.55, AAV42.12, AAV42-10, AAV42-11, AAV42-12, AAV42-13, AAV42-15, AAV42-1b, AAV42-2, AAV42-3a, AAV42-3b, AAV42-4, AAV42-5a, AAV42-5b, AAV42-6b, AAV42-8, AAV42-aa, AAV43-1, AAV43-12, AAV43-20, AAV43-21, AAV43-23, AAV43-25, AAV43-5, AAV4-4, AAV44.1, AAV44.2, AAV44.5, AAV46.2/hu.28, AAV46.6/hu.29, AAV4-8/r11.64, AAV4-8/rh.64, AAV4-9/rh.54, AAV5, AAV52.1/hu.20, AAV52/hu.19, AAV5-22/rh.58, AAV5-3/rh.57, AAV54.1/hu.21, AAV54.2/hu.22, AAV54.4R/hu.27, AAV54.5/hu.23, AAV54.7/hu.24, AAV58.2/hu.25, AAV6, AAV6.1, AAV6.1.2, AAV6.2, AAV7, AAV7.2, AAV7.3/hu.7, AAV8, AAV-8b, AAV-8h, AAV9, AAV9.11, AAV9.13, AAV9.16, AAV9.24, AAV9.45, AAV9.47, AAV9.61, AAV9.68, AAV9.84, AAV9.9, AAVA3.3, AAVA3.4, AAVA3.5, AAVA3.7, AAV-b, AAVC1, AAVC2, AAVC5, AAVCh.5, AAVCh.5R1, AAVcy.2, AAVcy.3, AAVcy.4, AAVcy.5, AAVCy.5R1, AAVCy.5R2, AAVCy.5R3, AAVCy.5R4, AAVcy.6, AAV-DJ, AAV-DJ8, AAVF3, AAVF5, AAV-h, AAVH-1/hu.1, AAVH2, AAVH-5/hu.3, AAVH6, AAVhE1.1, AAVhER1.14, AAVhEr1.16, AAVhEr1.18, AAVhER1.23, AAVhEr1.35, AAVhEr1.36, AAVhEr1.5, AAVhEr1.7, AAVhEr1.8, AAVhEr2.16, AAVhEr2.29, AAVhEr2.30, AAVhEr2.31, AAVhEr2.36, AAVhEr2.4, AAVhEr3.1, AAVhu.1, AAVhu.10, AAVhu.11, AAVhu.11, AAVhu.12, AAVhu.13, AAVhu.14/9, AAVhu.15, AAVhu.16, AAVhu.17, AAVhu.18, AAVhu.19, AAVhu.2, AAVhu.20, AAVhu.21, AAVhu.22, AAVhu.23.2, AAVhu.24, AAVhu.25, AAVhu.27, AAVhu.28, AAVhu.29, AAVhu.29R, AAVhu.3, AAVhu.31, AAVhu.32, AAVhu.34, AAVhu.35, AAVhu.37, AAVhu.39, AAVhu.4, AAVhu.40, AAVhu.41, AAVhu.42, AAVhu.43, AAVhu.44, AAVhu.44R1, AAVhu.44R2, AAVhu.44R3, AAVhu.45, AAVhu.46, AAVhu.47, AAVhu.48, AAVhu.48R1, AAVhu.48R2, AAVhu.48R3, AAVhu.49, AAVhu.5, AAVhu.51, AAVhu.52, AAVhu.53, AAVhu.54, AAVhu.55, AAVhu.56, AAVhu.57, AAVhu.58, AAVhu.6, AAVhu.60, AAVhu.61, AAVhu.63, AAVhu.64, AAVhu.66, AAVhu.67, AAVhu.7, AAVhu.8, AAVhu.9, AAVhu.t19, AAVLG-10/rh.40, AAVLG-4/rh.38, AAVLG-9/hu.39, AAVLG-9/hu.39, AAV-LK01, AAV-LK02, AAVLK03, AAV-LK03, AAV-LK04, AAV-LK05, AAV-LK06, AAV-LK07, AAV-LK08, AAV-LK09, AAV-LK10, AAV-LK11, AAV-LK12, AAV-LK13, AAV-LK14, AAV-LK15, AAV-LK17, AAV-LK18, AAV-LK19, AAVN721-8/rh.43, AAV-PAEC, AAV-PAEC11, AAV-PAEC12, AAV-PAEC2, AAV-PAEC4, AAV-PAEC6, AAV-PAEC7, AAV-PAEC8, AAVpi.1, AAVpi.2, AAVpi.3, AAVrh.10, AAVrh.12, AAVrh.13, AAVrh.13R, AAVrh.14, AAVrh.17, AAVrh.18, AAVrh.19, AAVrh.2, AAVrh.20, AAVrh.21, AAVrh.22, AAVrh.23, AAVrh.24, AAVrh.25, AAVrh.2R, AAVrh.31, AAVrh.32, AAVrh.33, AAVrh.34, AAVrh.35, AAVrh.36, AAVrh.37, AAVrh.37R2, AAVrh.38, AAVrh.39, AAVrh.40, AAVrh.43, AAVrh.44, AAVrh.45, AAVrh.46, AAVrh.47, AAVrh.48, AAVrh.48, AAVrh.48.1, AAVrh.48.1.2, AAVrh.48.2, AAVrh.49, AAVrh.50, AAVrh.51, AAVrh.52, AAVrh.53, AAVrh.54, AAVrh.55, AAVrh.56, AAVrh.57, AAVrh.58, AAVrh.59, AAVrh.60, AAVrh.61, AAVrh.62, AAVrh.64, AAVrh.64R1, AAVrh.64R2, AAVrh.65, AAVrh.67, AAVrh.68, AAVrh.69, AAVrh.70, AAVrh.72, AAVrh.73, AAVrh.74, AAVrh.8, AAVrh.8R, AAVrh8R, AAVrh8R A586R 돌연변이체, AAVrh8R R533A 돌연변이체, BAAV, BNP61 AAV, BNP62 AAV, BNP63 AAV, 소의 AAV, 염소의 AAV, 일본 AAV 10, 진정 유형 AAV (ttAAV), UPENN AAV 10, AAV-LK16, AAV, AAV 셔플 100-1, AAV 셔플 100-2, AAV 셔플 100-3, AAV 셔플 100-7, AAV 셔플 10-2, AAV 셔플 10-6, AAV 셔플 10-8, AAV SM 100-10, AAV SM 100-3, AAV SM 10-1, AAV SM 10-2, 및 AAV SM 10-8이 포함될 수 있다. 예를 들어, AAVrh.74는 이중 폴리펩티드 및 이중 폴리뉴클레오티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열(예를 들어 Cas 단백질-유전자 이펙터 융합체 및 하나 이상의 가이드 핵산 분자)을 운반하기 위한 바이러스 벡터로 사용될 수 있다.

[0221] 핵산의 비-바이러스 운반 방법에는 리포펙션, 뉴클레오펙션, 미세주사, 바이오리스틱스, 비로솜, 리포솜, 면역 리포솜, 다중양이온 또는 지질:핵산 접합체, 지질 나노입자(LNP), 네이키드 DNA, 인공 비리온, 및 DNA 흡수 강화 제제가 포함될 수 있다. 폴리뉴클레오티드의 효율적인 수용체 인식 리포펙션에 적합한 양이온성 및 중성 지질을 사용할 수 있다.

[0222] 이중 유전자 이펙터(들) 및/또는 가이드 핵산 분자(들)와 같은 본원에 개시된 임의의 조성물(또는 조성물의 임의의 부분을 코딩하는 하나 이상의 유전자)은 임의의 적합한 투여 경로, 예컨대 비경구(예: 정맥내, 종양내, 피하, 근육내, 뇌내, 뇌실내, 관절내, 복강내, 또는 두개내), 비강내, 불내, 설하, 경구, 또는 직장 투여 경로를

포함하지만 이에 제한되지 않는 투여 경로로 투여될 수 있다. 일부 경우에, 약제학적 조성물은 비경구(예를 들어, 정맥내, 종양내, 피하, 근육내, 뇌내, 뇌실내, 관절내, 복강내 또는 두개내) 투여용으로 제형화된다.

[0223] **표적 유전자(들)**

[0224] 본 개시내용은 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현을 조절하기 위한 조성물, 방법 및 시스템을 제공한다. 예를 들어, 표적 유전자의 활성 또는 발현 수준을 증가시키거나 감소시킬 수 있는 가이드 모이어티 및 하나 이상의 이중 유전자 이펙터를 포함하는 복합체가 본원에 개시되어 있다.

[0225] 일부 실시양태에서, 표적 유전자 또는 이의 조절 서열은 대상체에 내인성이며, 예를 들어 대상체의 게놈에 존재한다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자 또는 이의 조절 서열은 조작된 리포터 시스템의 일부가 아니다.

[0226] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 숙주 대상체에 대해 외인성이며, 예를 들어 병원체 표적 유전자 또는 유전자 요법 및/또는 세포 요법과 같은 치료적 개입의 결과로 발현되는 외인성 유전자이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 외인성 리포터 유전자이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 외인성 합성 유전자이다.

[0227] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 질병 또는 병태에서 과발현되거나 과소발현되는 유전자이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 유전성 유전 질환에서 과발현되거나 과소발현되는 유전자이다.

[0228] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 자가면역 질환에서 과발현되거나 과소발현되는 유전자이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 급성 과중성 뇌척수염, 급성 운동축삭 신경병증, 에디슨병, 동통성지방증, 성인형 스틸병, 원형 탈모증, 강직척추염, 항사구체 기저막 질환, 기저막신염, 항호중구 세포질 항체 관련 혈관염, 항-N-메틸-D-아스파르트산 수용체 뇌염, 항인지질증후군, 항합성효소증후군, 재생 불량성 빈혈, 자가면역 혈관성부종, 자가면역 뇌염, 자가면역 장질환, 자가면역 용혈성빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 림프증식 증후군, 자가면역 호중구 감소증, 자가면역 난소염, 자가면역 고환염, 자가면역 췌장염, 자가면역 다내분비 증후군, 자가면역 다내분비 증후군 2형, 자가면역 다내분비 증후군 3형, 자가면역 프로게스테론 피부염, 자가면역 망막병증, 자가면역 혈소판감소자반증, 자가면역 갑상선염, 자가면역 두드러기, 자가면역 포도막염, 발로 동심성 경화증, 베체트병, 비커스태프 뇌염, 수포성 유천포창, 셀리악병, 만성 피로 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 처그-스트라우스 증후군, 반흔성 유천포창, 코간 증후군, 한랭응집병, 복합 부위 통증 증후군, CREST 증후군, 크론병, 포진성 피부염, 피부근염, 제1형 당뇨병, 원반형 홍반성 루푸스, 자궁내막증, 골부착염, 골부착염 관련 관절염, 호산구성 식도염, 호산구성 근막염, 후천성 포피수포증, 결절성 홍반, 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 펠티 증후군, 섬유근육통, 위염, 임신성 천포창, 거대 세포 동맥염, 굿패스처 증후군, 그레이브스병, 그레이브스 안병증, 길랭-바레 증후군, 하시모토 뇌병증, 하시모토 갑상선염, 해노호-손라인 자반증, 화농성한선염, 특발성 확장성 심근병증, 특발성 염증성 탈수초성 질환, IgA 신장병, IgG4 관련 전신 질환, 포함체 근육염, 염증성 장 질환(IBD), 중간 포도막염, 간질성 방광염, 연소성 관절염, 가와사키병, 램버트-이튼 근무력증 증후군, 백혈구과괴성 혈관염, 편평 태선, 경화 태선, 목질결막염, 선형 IgA병, 루푸스신염, 루푸스혈관염, 라임병, 메니에르병, 미세대장염, 미세다발혈관염, 혼합결합조직병, 무렌케양, 모르피아, 무하-하베르만병, 다발성경화증, 중증근육무력증, 심근염, 근육염, 시신경척수염, 신경근긴장증, 안구간대경력-근간대경력(Opsoclonus myoclonus) 증후군, 시신경염, Ord 갑상선염, 회문성 류머티즘, 부종양성소뇌퇴화, Parry Romberg 증후군, 파르소니지-터너(Parsonage-Turner) 증후군, 연쇄상구균 관련 소아 자가면역 신경정신병, 심상성천포창, 악성빈혈, 태선비강(Pityriasis lichenoides et varioliformis) 아쿠타, POEMS증후군, 결절다발동맥염, 류마티스다발근육통, 다발근염, 심근경색후증후군, 심낭절개후증후군, 원발성 담도경변증, 원발성 면역결핍, 원발성 경화성 담관염, 진행성 염증성 신경병증, 건선, 건선성 관절염, 순적혈구무형성증, 피저성농피증, 레이노현상, 반응성 관절염, 재발성 다발연골염, 하지 불안 증후군, 후복막 섬유증, 류마티스열, 류마티스 관절염, 류마티스 혈관염, 유육종증, 슈니츨러 증후군, 피부경화증, 쇼그렌 증후군, 경직증후군, 아급성 세균성 심내막염, 수삭 증후군, 시덴함 무도병, 교감성 안염, 전신 홍반루푸스, 전신경화증, 혈소판 감소증, Tolosa-Hunt 증후군, 횡단 척수염, 췌양성 대장염, 미분화 결합조직 질환, 두드러기, 두드러기성 혈관염, 혈관염, 또는 백반증에서 과발현되거나 과소발현되는 유전자이다.

[0229] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 암, 예를 들어 급성 백혈병, 정상세포종, 담도암(담관암종), 골암, 유방암, 뇌간 신경교종, 세기관지폐포세포암, 부신암, 항문 부위의 암, 방광암, 내분비계암, 식도암, 두경부암, 신장암, 부갑상선암, 음경암, 흉막/복막암, 타액선암, 소장암, 갑상선암, 요관암, 요도암, 자궁경부암종, 자궁내막암종, 나팔관암종, 신우암종, 질암종, 외음부암종, 자궁경부암, 만성 백혈병, 대장암, 결장직장암, 피부 흑색종, 상의세포종, 유포피종양, 유잉 육종, 위암, 교모세포종, 다형성 교모세포종,

신경교종, 혈액 악성종양, 간세포(간) 암종, 간암, 호지킨병, 안내 흑색종, 카포시 육종, 폐암, 림프종, 수모세포종, 흑색종, 수막종, 중피종, 다발성 골수종, 근육암, 중추신경계(CNS) 신생물, 신경암, 소세포폐암, 비소세포폐암, 골육종, 난소암, 췌장암, 소아 악성종양, 뇌하수체 선종, 전립선암, 직장암, 신장세포 암종, 연조직 육종, 신경초종, 피부암, 척추 축 종양, 편평 세포 암종, 위암, 윤활막 육종, 고환암, 자궁암, 또는 상기 암의 난치성 버전을 포함한 종양 및 전이, 또는 이의 조합에서 과발현되거나 과소발현되는 유전자이다.

[0230] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 분화 관련 유전자, 예를 들어 SSEA1, SSEA3/4, SSEA5, TRA1-60/81, TRA1-85, TRA2-54, GCTM-2, TG343, TG30, CD9, CD29, CD133/프로미닌, CD140a, CD56, CD73, CD90, CD105, OCT4, NANOG, SOX2, CD30, CD50, AHR, 아이올로스/IKZF3, CDX4, CREB, DNMT3A, DNMT3B, EGR1, FoxO3, GATA-1, GATA-2, GATA-3, 헬리오스, HES-1, HHEX, HIF-1 알파/HIF1A, HMGB1/HMG-1, HMGB3, 이카로스, c-Jun, LMO2, LMO4, c-Maf, MafB, MEF2C, MYB, c-Myc, NFATC2, NFIL3/E4BP4, Nrf2, p53, PITX2, PRDM16/MEL1, Prox1, PU.1/Spi-1, RUNX1/CBFA2, SALL4, SCL/Tal1, Smad2, Smad2/3, Smad4, Smad7, Spi-B, STAT 활성화제, STAT 억제제, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT6, TSC22, DUX4, DUX4/DUX4c, DUX4c, EBF-1, EBF-2, EBF-3, ETV5, FoxC2, FoxF1, GATA-4, GATA-6, HMGA2, c-Jun, MYF-5, 미오카르딘(Myocardin), MyoD, 미오게닌(Myogenin), NFATC2, p53, Pax3, PDX-1/IPF1, PLZF, PRDM16/MEL1, RUNX2/CBFA1, Smad1, Smad3, Smad4, Smad5, Smad8, Smad9, Snail, SOX2, SOX9, SOX11, STAT 활성화제, STAT 억제제, STAT1, STAT3, TBX18, Twist-1, Twist-2, Brachyury, EOMES, FoxC2, FoxD3, FoxF1, FoxH1, FoxO1/FKHR, GATA-2, GATA-3, GBX2, 구스코이드(Gooseoid), HES-1, HNF-3 알파/FoxA1, c-Jun, KLF2, KLF4, KLF5, c-Maf, Max, MEF2C, MIXL1, MTF2, c-Myc, 나눅(Nanog), NFkB/IkB 활성화제, NFkB/IkB 억제제, NFkB1, NFkB2, Oct-3/4, Otx2, p53, Pax2, Pax6, PRDM14, Rex-1/ZFP42, SALL1, SALL4, Smad1, Smad2, Smad2/3, Smad3, Smad4, Smad5, Smad8, Snail, SOX2, SOX7, SOX15, SOX17, STAT 활성화제, STAT 억제제, STAT3, SUZ12, TBX6, TCF-3/E2A, THAP11, UTF1, WDR5, WT1, ZNF206, ZNF281, KLF2, KLF4, c-Maf, c-Myc, Nanog, Oct-3/4, p53, SOX1, SOX2, SOX3, SOX15, SOX18, TBX18, ASCL2/Mash2, CDX2, DNMT1, ELF3, Ets-1, FoxM1, FoxN1, GATA-6, 헤어리스(Hairless), HNF-4 알파/NR2A1, IRF6, c-Maf, MITF, Miz-1/ZBTB17, MSX1, MSX2, MYB, c-Myc, 뉴로게닌(Neurogenin)-3, NFATC1, NKX3.1, Nrf2, p53, p63/TP73L, Pax2, Pax3, RUNX1/CBFA2, RUNX2/CBFA1, RUNX3/CBFA3, Smad1, Smad2, Smad2/3, Smad4, Smad5, Smad7, Smad8, Snail, SOX2, SOX9, STAT 활성화제, STAT 억제제, STAT3, SUZ12, TCF-3/E2A, TCF7/TCF1, 안드로젠 R/NR3C4, AP-2 감마, 베타-카테닌, 베타-카테닌 억제제, 브라키우리, CREB, ER 알파/NR3A1, ER 베타/NR3A2, FoxM1, FoxO3, FRA-1, GLI-1, GLI-2, GLI-3, HIF-1 알파/HIF1A, HIF-2 알파/EPAS1, HMGA1B, c-Jun, JunB, KLF4, c-Maf, MCM2, MCM7, MITF, c-Myc, Nanog, NFkB/IkB 활성화제, NFkB/IkB 억제제, NFkB1, NKX3.1, Oct-3/4, p53, PRDM14, Snail, SOX2, SOX9, STAT 활성화제, STAT 억제제, STAT3, TAZ/WWTR1, TBX3, Twist-1, Twist-2, WT1, 또는 ZEB1이다.

[0231] 일부 실시양태에서, 표적 세포(예를 들어, 근육 세포)에서 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 수준(예를 들어, 메틸화 수준)의 조절은 표적 유전자의 하류 유전자(예를 들어, 하나 이상의 하류 유전자)의 변형(예를 들어, 상향 조절 또는 하향 조절)을 가져올 수 있다. 일부 경우에, 표적 유전자는 D4Z4 반복 배열에 의해 코딩될 수 있으며(예를 들어, 표적 유전자는 DUX4임), 그 결과 발현이 변형되는(예를 들어, 하향조절되는) 하류 유전자에는 ZSCAN4, LEUTX, MBD3L2, TRIM48, TRIM43, DEFBI03, ZFN217, RNASEL, EIF2AK2, BMP2, SP1 P21, MYC, MURF1, ATROGIN1, CRYM, PRAMEF1, RFPL2, KHDC1, SPRYD5, TPRX1, HSPA2, FGFR3, ID 224, SFRS2B, THOC4, ZNHIT6, DBR1, TFIP11, FBXO33, USP29, TRIM23, SLC34A2, CSAG3, 및/또는 PNMA6B가 포함될 수 있지만 이에 제한되지 않는다.

[0232] 일부 실시양태에서, 표적 세포에서 표적 유전자의 발현 수준 및/또는 후성적 수준(예를 들어, 메틸화 수준)의 조절은 표적 세포(예를 들어, 근육 세포)의 세포사멸을 가져올 수 있다. 어떤 경우에는, 이러한 표적 유전자의 조절이 표적 세포의 스트레스를 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 표적 유전자(예: DUX4)의 조절은 표적 세포에서 하나 이상의 스트레스 관련 마커의 하향조절을 가져올 수 있다. 하나 이상의 스트레스 관련 마커의 비제한적인 예에는 ACTH, 글루코코르티코이드 수용체, CRHR-1/2, POMC, 프로락틴, 아르기닌 바소프레신 수용체 V1a, 슈퍼옥사이드 디스뮤타제 1, 슈퍼옥사이드 디스뮤타제 2, 퍼옥시레독신-3, CCR5, iNOS, eNOS, 험 옥시게나제-2, 사이클로옥시게나제-2, HSP27, HSP40, HSP60, HSP70, HSP70i, HSP90, HSP110, GRP78/BIP, AIF, 아넥신 II, 아넥신 IV, 카스파제 1, 카스파제 2, 카스파제 3, 카스파제 6, 사이토케라틴, E-카드헤린, 및/또는 아넥신 V, 카스파제 5, 카스파제 7, 카스파제 8, 카스파제 9, 카스파제 10, BAD, BAX, BAK, BCL2, BID, PARP-1, NOXA, PUMA, RIPK3, RIPK1, FADD, APAF1, DFF40, DFF45, ROCK가 포함될 수 있다. 본원에 개시된 하나 이상의 스트레스 관련 마커는 세포사멸 마커일 수 있다.

- [0233] 일부 실시양태에서, 이중 유전자 이펙터는 조혈 줄기세포 전사 인자인 유전자 생성물로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 중간엽 줄기세포 전사 인자이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 배아줄기세포 전사인자이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 유도만능줄기세포(iPSC) 전사 인자이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 상피 줄기세포 전사 인자이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 암 줄기세포 전사 인자이다.
- [0234] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 연령 관련 유전자이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 노화 관련 단백질이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 약물 표적이다.
- [0235] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 암 관련 유전자이다. 암 관련 유전자의 비제한적 예에는 AICF, AB11, ABL1, ABL2, ACKR3, ACSL3, ACSL6, ACVR1, ACVR2A, AFDN, AFF1, AFF3, AFF4, AKAP9, AKT1, AKT2, AKT3, ALDH2, ALK, AMER1, ANK1, APC, APOBEC3B, AR, ARAF, ARHGAP26, ARHGAP5, ARHGEF10, ARHGEF10L, ARHGEF12, ARID1A, ARID1B, ARID2, ARNT, ASPSCR1, ASXL1, ASXL2, ATF1, ATIC, ATM, ATP1A1, ATP2B3, ATR, ATRX, AXIN1, AXIN2, B2M, BAP1, BARD1, BAX, BAZ1A, BCL10, BCL11A, BCL11B, BCL2, BCL2L12, BCL3, BCL6, BCL7A, BCL9, BCL9L, BCLAF1, BCOR, BCORL1, BCR, BIRC3, BIRC6, BLM, BMP5, BMPR1A, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRD3, BRD4, BRIP1, BTG1, BTK, BUB1B, C15orf65, CACNA1D, CALR, CAMTA1, CANT1, CARD11, CARS, CASP3, CASP8, CASP9, CBFA2T3, CBF3, CBL, CBLB, CBLC, CCDC6, CCNB1IP1, CCNC, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CCR4, CCR7, CD209, CD274, CD28, CD74, CD79A, CD79B, CDC73, CDH1, CDH10, CDH11, CDH17, CDK12, CDK4, CDK6, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2C, CDX2, CEBPA, CEP89, CHCHD7, CHD2, CHD4, CHEK2, CHIC2, CHST11, CIC, CIITA, CLIP1, CLP1, CLTC, CLTCL1, CNBD1, CNBP, CNOT3, CNTNAP2, CNTRL, COL1A1, COL2A1, COL3A1, COX6C, CPEB3, CREB1, CREB3L1, CREB3L2, CREBBP, CRLF2, CRNKL1, CRTCL1, CRTCL3, CSF1R, CSF3R, CSMD3, CTCF, CTNNA2, CTNNA1, CTNND1, CTNND2, CUL3, CUX1, CXCR4, CYLD, CYP2C8, CYSLTR2, DAXX, DCAF12L2, DCC, DCTN1, DDB2, DDIT3, DDR2, DDX10, DDX3X, DDX5, DDX6, DEK, DGCR8, DICER1, DNAJB1, DNMT2, DNMT3A, DNMT3B, DNMT3C, DUX4L1, EBF1, ECT2L, EED, EGFR, EIF1AX, EIF3E, EIF4A2, ELF3, ELF4, ELK4, ELL, ELN, EML4, EP300, EPAS1, EPHA3, EPHA7, EPS15, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERC1, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ERG, ESR1, ETK1, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EWSR1, EXT1, EXT2, EZH2, EZR, FAM131B, FAM135B, FAM47C, FANCA, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FAS, FAT1, FAT3, FAT4, FBLN2, FBXO11, FBXW7, FCGR2B, FCRL4, FEN1, FES, FEV, FGFR1, FGFR1OP, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FH, FHIT, FIP1L1, FKBP9, FLCN, FLI1, FLNA, FLT3, FLT4, FNBP1, FOXA1, FOXL2, FOXO1, FOXO3, FOXO4, FOXP1, FOXR1, FSTL3, FUBP1, FUS, GAS7, GATA1, GATA2, GATA3, GLI1, GMPS, GNA11, GNAQ, GNAS, GOLGA5, GOPC, GPC3, GPC5, GPHN, GRIN2A, GRM3, H3F3A, H3F3B, HERPUD1, HEY1, HIF1A, HIP1, HIST1H3B, HIST1H4I, HLA-A, HLF, HMGA1, HMGA2, HMG2P46, HNF1A, HNRNPA2B1, HOOK3, HOXA11, HOXA13, HOXA9, HOXC11, HOXC13, HOXD11, HOXD13, HRAS, HSP90AA1, HSP90AB1, ID3, IDH1, IDH2, IGF2BP2, IGH, IGK, IGL, IKKB, IKZF1, IL2, IL21R, IL6ST, IL7R, IRF4, IRS4, ISX, ITGAV, ITK, JAK1, JAK2, JAK3, JAZF1, JUN, KAT6A, KAT6B, KAT7, KCNJ5, KDM5A, KDM5C, KDM6A, KDR, KDSR, KEAP1, KIAA1549, KIF5B, KIT, KLF4, KLF6, KLK2, KMT2A, KMT2C, KMT2D, KNL1, KNSTRN, KRAS, KTN1, LARP4B, LASP1, LATS1, LATS2, LCK, LCP1, LEF1, LEPROTL1, LHFPL6, LIFR, LMNA, LMO1, LMO2, LPP, LRIG3, LRP1B, LSM14A, LYL1, LZTR1, MACC1, MAF, MAFB, MALAT1, MALT1, MAML2, MAP2K1, MAP2K2, MAP2K4, MAP3K1, MAP3K13, MAPK1, MAX, MB21D2, MDM2, MDM4, MDS2, MECOM, MED12, MEN1, MET, MGMT, MITF, MLF1, MLH1, MLLT1, MLLT10, MLLT11, MLLT3, MLLT6, MN1, MNX1, MPL, MRTFA, MSH2, MSH6, MSI2, MSN, MTCP1, MTOR, MUC1, MUC16, MUC4, MUTYH, MYB, MYC, MYCL, MYCN, MYD88, MYH11, MYH9, MYO5A, MYO19, N4BP2, NAB2, NACA, NBEA, NBN, NCKIPSD, NCOA1, NCOA2, NCOA4, NCOR1, NCOR2, NDRG1, NF1, NF2, NFATC2, NFE2L2, NFIB, NFKB2, NFKBIE, NIN, NKX2-1, NONO, NOTCH1, NOTCH2, NPM1, NR4A3, NRAS, NRG1, NSD1, NSD2, NSD3, NT5C2, NTHL1, NTRK1, NTRK3, NUMA1, NUP214, NUP98, NUTM1, NUTM2B, NUTM2D, OLIG2, OMD, P2RY8, PABPC1, PAFAH1B2, PALB2, PATZ1, PAX3, PAX5, PAX7, PAX8, PBRM1, PBX1, PCBP1, PCM1, PDCD1LG2, PDE4DIP, PDGFB, PDGFRA, PDGFRB, PER1, PHF6, PHOX2B, PICALM, PIK3CA, PIK3CB, PIK3R1, PIM1, PLAG1, PLCG1, PML, PMS1, PMS2, POLD1, POLE, POLG, POLQ, POT1, POU2AF1, POU5F1, PPARG, PPFBP1, PPM1D, PPP2R1A, PPP6C, PRCC, PRDM1, PRDM16, PRDM2, PREX2, PRF1, PRKACA, PRKARIA, PRKCB, PRPF40B, PRRX1, PSIP1, PTCH1, PTEN, PTK6, PTPN11, PTPN13, PTPN6, PTPRB, PTPRC, PTPRD, PTPRK, PTPRT, PWWP2A, QKI, RABEP1, RAC1, RAD17, RAD21, RAD51B, RAF1, RALGDS, RANBP2, RAP1GDS1, RARA, RB1, RBM10, RBM15, RECQL4, REL, RET, RFWD3, RGP3, RGS7, RHOA, RHOH, RMI2, RNF213, RNF43, ROBO2, ROS1, RPL10, RPL22, RPL5, RPN1, RSPO2, RSPO3, RUNX1, RUNX1T1, S100A7, SALL4, SBDS, SDC4, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, 44444, 44445, 44448, SET, SETBP1, SETD1B, SETD2, SETDB1, SF3B1, SFPQ, SFRP4, SGK1, SH2B3, SH3GL1, SHTN1, SIRPA, SIX1, SIX2, SKI, SLC34A2, SLC45A3, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMARCD1, SMARCE1, SMC1A, SMO, SND1, SNX29, SOCS1, SOX2, SOX21, SPECC1, SPEN, SPOP, SRC, SRGAP3, SRSF2,

SRSF3, SS18, SS18L1, SSX1, SSX2, SSX4, STAG1, STAG2, STAT3, STAT5B, STAT6, STIL, STK11, STRN, SUFU, SUZ12, SYK, TAF15, TAL1, TAL2, TBL1XR1, TBX3, TCEA1, TCF12, TCF3, TCF7L2, TCL1A, TEC, TENT5C, TERT, Tet1, Tet2, TFE3, TFEB, TFG, TFPT, TFRC, TGFB2, THRAP3, TLX1, TLX3, TMEM127, TMPRSS2, TNC, TNFAIP3, TNFRSF14, TNFRSF17, TOP1, TP53, TP63, TPM3, TPM4, TPR, TRA, TRAF7, TRB, TRD, TRIM24, TRIM27, TRIM33, TRIP11, TRRAP, TSC1, TSC2, TSHR, U2AF1, UBR5, USP44, USP6, USP8, VAV1, VHL, VTI1A, WAS, WDCP, WIF1, WNK2, WRN, WT1, WWTR1, XPA, XPC, XPO1, YWHAE, ZBTB16, ZCCHC8, ZEB1, ZFH3, ZMYM2, ZMYM3, ZNF331, ZNF384, ZNF429, ZNF479, ZNF521, ZNRF3, 및 ZRSR2가 포함된다.

[0236] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 면역 세포 관련 유전자, 예를 들어 사이토카인, 사이토카인 수용체, 케모카인, 케모카인 수용체, 공동억제 면역 수용체, 공동자극 면역 수용체, 면역세포 전사인자 등이다.

[0237] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 사이토카인, 예를 들어, 4-1BBL, APRIL, CD153, CD154, CD178, CD70, G-CSF, GITRL, GM-CSF, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , IL-1RA, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-20, IL-23, LIF, LIGHT, LT- β , M-CSF, MSP, OSM, OX40L, SCF, TALL-1, TGF- β , TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, TNF- α , TNF- β , TRAIL, TRANCE, 또는 TWEAK이다.

[0238] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 사이토카인 수용체, 예를 들어 공통 감마 사슬 수용체, 공통 베타 사슬 수용체, 인터페론 수용체, TNF 계열 수용체, TGF- β 수용체, Apo3, BCMA, CD114, CD115, CD116, CD117, CD118, CD120, CD120a, CD120b, CD121, CD121a, CD121b, CD122, CD123, CD124, CD126, CD127, CD130, CD131, CD132, CD212, CD213, CD213a1, CD213a13, CD213a2, CD25, CD27, CD30, CD4, CD40, CD95 (Fas), CDw119, CDw121b, CDw125, CDw131, CDw136, CDw137 (41BB), CDw210, CDw217, GITR, HVEM, IL-11R, IL-11Ra, IL-14R, IL-15R, IL-15Ra, IL-18R, IL-18R α , IL-18R β , IL-20R, IL-20R α , IL-20R β , IL-9R, LIFR, LT β R, OPG, OSMR, OX40, RANK, TACI, TGF- β R1, TGF- β R2, TGF- β R3, TRAILR1, TRAILR2, TRAILR3, 또는 TRAILR4이다.

[0239] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 케모카인, 예를 들어 ACT-2, AMAC-a, ATAC, ATAC, BLC, CCL1, CCL11, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL2, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CKb-6, CKb-8, CTACK, CX3CL1, CXCL1, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, DC-CK1, ELC, ENA-78, 에오타신, 에오타신-2, 에오타신-3, 에스킨, 엑소더스-1, 엑소더스-2, 엑소더스-3, 프랙탈카인, GCP-2, GROa, GROb, GROg, HCC-1, HCC-2, HCC-4, I-309, IL-8, ILC, IP-10, I-TAC, LAG-1, LARC, LCC-1, LD78 α , LEC, Lkn-1, LMC, 림포액틴, 림포액틴 b, MCAF, MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4, MDC, MDNCF, MGSA-a, MGSA-b, MGSA-g, Mig, MIP-1d, MIP-1 α , MIP-1 β , MIP-2a, MIP-2b, MIP-3, MIP-3 α , MIP-3 β , MIP-4, MIP-4a, MIP-5, MPIF-1, MPIF-2, NAF, NAP-1, NAP-2, 온코스타틴, PARC, PF4, PPBP, RANTES, SCM-1a, SCM-1b, SDF-1 α / β -, SLC, STCP-1, TARC, TECK, XCL1, 또는 XCL2이다.

[0240] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 케모카인 수용체, 예를 들어 CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CX3CR1, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, XCR1, 또는 XCR1이다.

[0241] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 활성화 NK 수용체, 예를 들어 CD100(SEMA4D), CD16(Fc γ R11A), CD160(BY55), CD244(2B4, SLAMF4), CD27, CD94-NKG2C, CD94-NKG2E, CD94-NKG2H, CD96, CRTAM, DAP12, DNAM1(CD226), KIR2DL4, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DS1, Ly49, NCR, NKG2D(KLRK1, CD314), NKp30(NCR3), NKp44(NCR2), NKp46(NCR1), NKp80(KLRF1, CLEC5C), NTB-A(SLAMF6), PSGL1, 또는 SLAMF7(CRACC, CS1, CD319)이다.

[0242] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 억제성 NK 수용체, 예를 들어 CD161(NKR-P1A, NK1.1), CD94-NKG2A, CD96, CEACAM1, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KLRG1, LAIR1, LIR1(ILT2, LILRB1), Ly49a, Ly49b, NKR-P1A(KLRB1), SIGLEC-10, SIGLEC-11, SIGLEC-14, SIGLEC-16, SIGLEC-3(CD33), SIGLEC-5(CD170), SIGLEC-6(CD327), SIGLEC-7(CD328), SIGLEC-8, SIGLEC-9(CD329), SIGLEC-E, SIGLEC-F, SIGLEC-G, SIGLEC-H, 또는 TIGIT이다.

[0243] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 공동억제성 면역 수용체, 예를 들어 2B4,

B7-1, BTLA, CD160, CTLA-4, DR6, Fas, LAG3, LAIR1, Ly108, PD-1, PD-L1, PD1H, TIGIT, TIM1, TIM2, 또는 TIM3이다.

[0244] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 공동자극 면역 수용체, 예를 들어 2B4, 4-1BB, CD2, CD4, CD8, CD21, CD27, CD28, CD30, CD40, CD84, CD226, CD355, CRACC, DcR3, DR3, GITR, HVEM, ICOS, Ly9, Ly108, LIGHT, LTβR, OX40, SLAM, TIM1, 또는 TIM2이다.

[0245] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 그 자체로 유전자 이펙터, 예컨대 본원에 개시된 임의의 유전자 이펙터(예를 들어, 본원에 개시된 전사 인자)이다.

[0246] 일부 실시양태에서, 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)는 면역 세포 전사 인자, 예를 들어 AP-1, Bcl6, E2A, EBF, Eomes, FoxP3, GATA3, Id2, Ikaros, IRF, IRF1, IRF2, IRF3, IRF7, NFAT, NFκB, Pax5, PLZF, PU.1, ROR-감마-T, STAT, STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5, STAT5A, STAT5B, STAT6, T-bet, TCF7, 또는 ThPOK이다.

[0247] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 키나제, 예를 들어 티로신 키나제 또는 세린/트레오닌 키나제이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 포스포타제, 예를 들어 티로신 포스포타제, 또는 세린/트레오닌 포스포타제이다.

[0248] 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 수용체이다. 일부 실시예에서, 표적 유전자는 이온 채널이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 GPCR이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 수용체 티로신 키나제이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 리보솜 단백질이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 막 단백질이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 세포질 단백질이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 핵 단백질이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 미토콘드리아 단백질이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 유비퀴틴 리가제이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 메틸트랜스퍼라제이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 글리코실트랜스퍼라제이다. 일부 실시양태에서, 표적 유전자는 가수분해효소이다.

[0249] 일부 실시양태에서, CD45는 본 개시내용의 조성물 및 방법(예를 들어, 유전자 발현 활성화 스크린을 위한)에 사용되는 표적 유전자이다. 일부 실시양태에서, CD45는 표적 유전자로서 사용되지 않는다. CD45 발현을 조절하는 복합체를 확인하기 위해 본원에 개시된 조성물 및 방법은 유사하게 변형되어 본원에 개시된 것들을 포함하는 다른 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)에 적용될 수 있다.

[0250] 일부 실시양태에서, CD71은 본 개시내용의 조성물 및 방법(예를 들어, 유전자 발현 감소 스크린을 위한)에 사용되는 표적 유전자이다. 일부 실시양태에서, CD71은 표적 유전자로서 사용되지 않는다. CD71 발현을 조절하는 복합체를 확인하기 위해 본원에 개시된 조성물 및 방법은 유사하게 변형되어 본원에 개시된 것들을 포함하는 다른 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)에 적용될 수 있다.

[0251] **세포**

[0252] 본 개시내용의 조성물, 방법 및 시스템은 다양한 유형의 세포 및 이의 집단에 적용될 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 복합체는 특정 유형의 세포 또는 이의 집단에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형 또는 활성 수준의 변화를 유도하는 데 사용될 수 있다. 본 개시내용의 방법은 특정 유형의 세포 또는 이의 집단에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현 또는 활성의 변화를 유도할 수 있는 복합체를 확인하는 데 사용될 수 있다.

[0253] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 의해 확인된 복합체 또는 이중 유전자 이펙터는 특정 세포 유형에 특이적인 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현에 바람직한 변화를 가져온다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 의해 확인된 복합체 또는 이중 유전자 이펙터는 2개 이상의 세포 유형에 적용가능한 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현에 바람직한 변화를 가져온다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 의해 확인된 복합체 또는 이중 유전자 이펙터는 3개 이상의 세포 유형에 적용가능한 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현에 바람직한 변화를 가져온다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 의해 확인된 복합체 또는 이중 유전자 이펙터는 세포 유형의 부류, 예를 들어 유사한 조직에 존재하거나 동일하거나 유사한 분화 계통, 예를 들어 줄기세포, 면역 세포, T 세포, T 이펙터 세포 등에서 유래하는 중복되는 기능적 역할을 갖는 세포 유형에 적용가능한 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현에 바람직한 변화를 가져온다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 의해 확인된 복합체 또는 이중 유전자 이펙터는 다양한 세포 유형에 광범위하게 적용가능한 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현에 바람직한 변화를 가져오는데, 예를 들어, 표적 유전자의 발현 수준이 적절한 방법을 사용하여 세포에 도입될 때 여러 표적 세포

유형에 대해 특정 역치 이상 또는 미만인 표적 유전자의 발현 수준을 이끌어낸다.

- [0254] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 1차 세포에서 표적 유전자의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오기 위해 사용된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 세포주에서 표적 유전자의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오기 위해 사용된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 불멸화된 세포에서 표적 유전자의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오기 위해 사용된다.
- [0255] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 포유동물 세포, 예를 들어, 인간 세포, 비인간 영장류 세포, 비-설치류 포유동물 세포, 비-인간 포유동물 세포, 돼지 세포, 토끼 세포, 개 세포 등에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오기 위해 사용된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 식물 세포, 조류 세포, 파충류 세포, 박테리아 세포, 또는 고세균 세포에서 표적 유전자의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오는 데 사용된다.
- [0256] 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 인간 세포에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오는 데 사용될 수 있다.
- [0257] 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 줄기세포에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오는 데 사용될 수 있다.
- [0258] 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 분화된 세포에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오는 데 사용될 수 있다.
- [0259] 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 질병 관련 세포에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오는 데 사용될 수 있다.
- [0260] 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 암 세포에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오는 데 사용될 수 있다.
- [0261] 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 비-암 세포에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오는 데 사용될 수 있다.
- [0262] 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 림프구 세포, 예컨대 B 세포, T 세포(세포독성 T 세포, 자연 살해 T 세포, 조절 T 세포, T 보조 세포), 자연 살해 세포, 사이토카인 유도 살해(CIK) 세포(예를 들어 US20080241194 참조); 골수 세포, 예컨대 과립구(호염기성 과립구, 호산구 과립구, 호중구 과립구/과분절된 호중구), 단핵구/대식세포, 적혈구, 망상적혈구, 비만세포, 혈소판/거핵구, 수지상 세포; 갑상선(갑상선 상피 세포, 여포 주위 세포), 부갑상선(부갑상선 수석 세포, 호산 세포), 부신(크로마핀 세포), 송과체(송과체세포) 세포를 포함하는 내분비계 세포; 신경교 세포(성상교세포, 소교세포), 거대세포 신경분비 세포, 정상 세포, Boettcher 세포, 및 뇌하수체(성선 자극 호르몬, 코르티코트로프성 세포, 갑상선 자극 호르몬, 성장호르몬분비 세포, 락토포를 포함하는 신경계 세포; 폐세포(제I형 폐세포, 제II형 폐세포), 클라라 세포, 술잔세포, 진애세포를 포함하는 호흡기계 세포; 심근세포, 혈관주위세포를 포함한 순환계 세포; 위(위 주요 세포, 벽 세포), 술잔세포, 파네스세포, G 세포, D 세포, ECL 세포, I 세포, K 세포, S 세포를 포함하는 소화 시스템의 세포; 장 크롬친화성세포, APUD 세포, 간 세포(예를 들어, 간세포 또는 쿠퍼세포), 연골/뼈/근육을 포함하는 장내분비 세포; 조골세포(Osteoblast), 골세포(Osteocyte), 파골세포(Osteoclast), 치아 세포(Cementoblast, Ameloblast)를 포함하는 뼈 세포; 연골모세포, 연골세포를 포함하는 연골 세포; 트라이코사이트(Trichocyte), 케라틴세포, 멜라닌세포 (모반세포)를 포함한 피부 세포; 근육 세포를 포함한 근육 세포; 다리세포, 사구체혈관사이세포, 사구체내 혈관사이세포/사구체의 혈관사이세포, 신장 근위세뇨관 브러시 경계 세포, 치밀황반 세포를 포함하는 비뇨기계 세포; 정자(Spermatozoon), 세르톨리(Sertoli)세포, 레이디히(Leydig)세포, 난자를 포함하는 생식계 세포; 및 지방세포, 섬유아세포, 힘줄 세포, 표피 각질세포, 표피 기저 세포, 손톱 및 발톱의 각질 세포, 손발톱 기저 세포, 수질 모간 세포, 피질 모간 세포, 큐티클 모간 세포, 큐티클 모근초 세포, 혁슬리층의 모근초세포, 헨레층의 모근초세포, 외모근초세포, 모발기질세포, 습증증장벽상피세포, 각막, 혀, 구강, 식도, 항문관, 원위 요도 및 질의 중층평상피 표면상피세포, 각막 상피, 혀, 구강, 식도, 항문관, 원위 요도 및 질의 기저 세포, 요로 상피 세포, 외분비 분비 상피 세포, 침샘 점액 세포, 침샘 장액 세포, 혀의 본 에브너선 세포, 유선 세포, 눈물샘 세포, 귀의 귀지선 세포, 에크린 한선 암색 세포, 에크린 한선 투명 세포, 아포크린 땀샘 세포, 눈꺼풀의 물선 세포, 피지선 세포, 코의 보우만선 세포, 십이지장의 브루너선 세포, 정낭 세포, 전립선 세포, 구요도

선 세포, 바르톨린선 세포, 리트르선 세포, 자궁 자궁내막세포, 호흡기 및 소화관의 고립장세포, 위내막점액세포, 위선 자임세포, 위샘 산소세포, 췌장선조세포, 소장 판레스세포, 폐의 제2형 폐포세포, 폐의 클라라세포, 호르몬 분비 세포, 뇌하수체 전엽 세포, 체세포 자극, 유산 자극, 갑상선 자극, 성선 자극, 피질 자극, 뇌하수체 중기 세포, 거대 세포 신경 분비 세포, 장 및 호흡기 세포, 갑상선 세포, 갑상선 상피 세포, 부엽 세포, 부갑상선 세포, 부갑상선 주요 세포, 옥시필 세포, 부신 세포, 크로마핀 세포, 고환의 레이 디그 세포, 난소 난포의 내부 테카 세포, 과열된 난포의 황체 세포, 과립구 루테인 세포, 테카 루테인 세포, 사구체 세포, 신장의 치밀황반 세포, 대사 및 저장 세포, 장벽 기능 세포(예: 폐, 장, 외분비선 및 비노생식관), 신장, 제1형 폐포세포, 췌장관 세포(중심선 세포), 비황문관 세포(한선, 침샘, 유선 등), 관 세포(정낭, 전립선 등), 폐쇄된 내부 체강을 감싸는 상피 세포, 추진 기능을 가진 섬모 세포, 세포의 기질 분비 세포, 수축 세포를 포함한 기타 세포; 골격근세포, 줄기세포, 심장 근육 세포, 혈액 및 면역체계 세포, 적혈구, 거핵구, 단핵구, 결합 조직 대식세포(다양한 유형), 표피 랑게르한스 세포, 과립세포, 수지상 세포, 소교세포, 호중구 과립구, 호산구 과립구, 호염기성 과립구, 비만세포, 보조 T 세포, 억제 T 세포, 세포독성 T 세포, 자연살해 T 세포, B 세포, 자연살해 세포, 망상적혈구, 줄기세포 및 혈액 및 면역 체계에 사용되는 전구 세포(다양한 유형), 다능성줄기세포, 전분화줄기세포, 유도만능줄기세포, 성체줄기세포, 감각변환세포, 신경세포, 자율신경세포, 감각기관 및 말초신경 지지세포, 중추신경계 신경교세포 및 신경교세포, 수정체 세포, 색소세포, 멜라닌세포, 망막색소세포 상피 세포, 생식 세포, 난원세포/난모세포, 정세포, 정모세포, 정조세포, 정자, 보육세포, 난소 여포 세포, 세르톨리 세포, 흉선 상피 세포, 간질 세포, 간질 신장 세포, 총골수 전구 세포, 총 림프 전구 세포, 및 본원에 개시된 임의의 세포 유형으로 분화되거나 분화된 줄기세포에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오기 위해 사용될 수 있다.

[0263] 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 줄기세포, 예를 들어 분리된 줄기세포(예: ESC) 또는 유도된 줄기세포(예: iPSC)에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오는 데 사용될 수 있다.

[0264] 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 조혈 줄기세포, 예를 들어, 대상체, 예컨대 골수로부터의 조혈 줄기세포, 또는 말초 혈액으로부터의 조혈 줄기세포(예를 들어, 동원된 말초 혈액 성분채집 제품, 예를 들어 GCSF, GM-CSF, 모조빌 또는 이들의 조합의 투여에 의해 동원됨)에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오기 위해 사용될 수 있다.

[0265] 일부 경우에, 줄기세포(예를 들어, ESC 또는 iPSC)의 다능성은 부분적으로 세포의 다능성 특성을 평가함으로써 결정될 수 있다. 다능성 특성에는 다능성 줄기세포 형태; 무제한의 자가 갱신 가능성; SSEA1, SSEA3/4, SSEA5, TRA1-60/81, TRA1-85, TRA2-54, GCTM-2, TG343, TG30, CD9, CD29, CD133/프로미닌, CD140a, CD56, CD73, CD90, CD105, OCT4, NANOG, SOX2, CD30 및/또는 CD50을 포함하되 이에 제한되지 않는 다능성 줄기세포 마커의 발현; 3종의 체세포 계통(외배엽, 중배엽 및 내배엽) 모두로 분화하는 능력; 3종의 체세포 계통을 포함하는 기형종을 형성하는 능력; 및/또는 (vi) 3종의 체세포 계통의 세포를 포함하는 배아체의 형성 능력이 포함될 수 있다.

[0266] 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 면역 세포, 예를 들어 림프구, T 세포, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, 알파-베타 T 세포, 감마-델타 T 세포, T 조절 세포(Tregs), 세포독성 T 림프구, Th1 세포, Th2 세포, Th17 세포, Th9 세포, 미접촉 T 세포, 기억 T 세포, 이펙터 T 세포, 이펙터기억 T 세포(TEM), 중추 기억 T 세포(TCM), 상주 기억 T 세포(TRM), 여포 보조 T 세포(TFH), 자연살해 T 세포(NKT), 종양침윤림프구(TIL), 자연살해세포(NK), 선천림프세포(ILC), ILC1 세포, ILC2 세포, ILC3 세포, 림프조직유도세포(LTi) 세포, B 세포, B1 세포, B1a 세포, B1b 세포, B2 세포, 형질세포, B 조절 세포, 기억 B 세포, 변연부 B 세포, 여포성 B 세포, 배중심 B 세포, 항원 제시 세포(APC), 단핵구, 대식세포, M1 대식세포, M2 대식세포, 조직-관련 대식세포, 수지상 세포, 형질세포형 수지상 세포, 호중구, 비만 세포, 호염기구, 호산구, 공통 골수 전구 세포, 공통 림프 전구 세포, 또는 이들의 임의의 조합에서 표적 유전자(예를 들어, 표적 내인성 유전자)의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오기 위해 사용될 수 있다.

[0267] 본 개시내용의 조성물, 복합체, 시스템, 또는 방법은 생물학적 제제, 예를 들어 항체 또는 다른 단백질 기반 치료제를 제조하는 데 사용되는 조작된 세포의 발현, 후성적 변형, 또는 활성 수준의 변화를 가져오는 데 사용될 수 있다.

[0268] 실시예

[0269] **실시예 1: 표적 세포 집단에서 DUX4 발현 조절**

[0270] 림프아구 집단이 본원에 개시된 조성물 및 방법에 의해 DUX4 발현 수준을 조절하기 위한 표적 세포 집단의 예로서 사용되었다. 림프아구의 집단을 (i) 유전자 조절인자에 결합된 이중 이펙터 모이어티 및 (ii) 림프아구 집단에서 DUX4를 코딩하는 D4Z4 반복 배열 내의 2개의 CpG 섬 사이의 표적 폴리뉴클레오티드 서열에 이중 이펙터 모이어티를 지시하도록 설계된 가이드 RNA(표 1 참조)와 접촉시켰다. 다수의 가이드 RNA는 유전자 조절인자에 결합된 이중 액추에이터 모이어티가 림프아구 집단에서 각각의 표적 폴리뉴클레오티드 서열과 복합체를 형성할 수 있게 하여 DUX4 발현 수준을 약 0.2배 내지 약 0.8배 감소시킬 수 있었다(도 2).

[0271] 표 1. 도 2에 사용된 가이드 RNA 분자

| 서열번호 | 명칭 | 서열 |
|---------|--------------|-----------------------|
| 서열번호. 1 | DUX4_1 gRNA | CGCGGGGAGGGTGCTGTCCG |
| 서열번호. 2 | DUX4_2 gRNA | CCATCGCGGTGAGCCCCGCGC |
| 서열번호. 3 | DUX4_3 gRNA | GGGCGTCGCCGTTGCCGGGA |
| 서열번호. 4 | DUX4_4 gRNA | GAATGGCGGTGAGCCCCCT |
| 서열번호. 5 | DUX4_5 gRNA | CGGCTCTCCGGACTCTCCA |
| 서열번호. 6 | DUX4_6 gRNA | GACCCAGGGCGTCGAGGCCT |
| 서열번호. 7 | DUX4_7 gRNA | TGACGGCGGTCCGCTTTCGC |
| 서열번호. 8 | DUX4_10 gRNA | TCCAGGCATCGCCCGCCGGG |

[0272]

| | | |
|----------|--------------|----------------------|
| 서열번호. 9 | DUX4_11 gRNA | CGGGACGGTCTCGCACACGC |
| 서열번호. 10 | DUX4_12 gRNA | CCTTTACAAGGGCGGCTGGC |
| 서열번호. 11 | DUX4_13 gRNA | CTCTCTGGGCTCCCACGCGT |
| 서열번호. 12 | DUX4_14 gRNA | GTGCGAGACCGTCCCGGCAA |
| 서열번호. 13 | DUX4_15 gRNA | TCTCCCTGCTGCCGACGCGT |
| 서열번호. 14 | DUX4_91 gRNA | GTACGGGTTCCGCTCAAAGC |

[0273]

[0274] 실시예 2: 시험관 내 FSHD 모델의 검증

[0275] 시험관 내 FSHD 모델을 개발하기 위해, 2개의 불멸화된 환자 유래 FSHD 골격근아세포(SkM) 세포, 12ABIC(12A) 및 15ABIC(15A)을 완전 성장 배지에서 확장시켰다. 컨플루언스 시, 완전 성장 배지를 2일 또는 7일간의 분화 배지 조건으로 변경하였다(도 3a의 D2 또는 D7). 실험에는 미분화되고, 증식하는 근아세포(도 3a의 UD)인 음성 대조군이 포함되었다. 분화 후, 근아세포로부터 총 RNA를 추출하고 DUX4 및 DUX4 표적 유전자 ZSAC4, LEUTZ, MBD3L2, TRIM48, 및 TRIM43에 대한 TaqMan 프로브를 사용하여 qRT-PCR을 수행하였다. GAPDH는 qRT-PCR 측정을 위한 내부 참조 대조군으로 포함되었으며 이중 델타 Ct 방법을 사용하여 유전자 배수 변화를 계산하였다. 12ABIC 및 15ABIC 세포는 환자의 FSHD 발현과 일치하는 증가된 DUX4 및 DUX4 표적 유전자 발현을 보여주었다.

[0276] 이어서, 12ABIC 및 15ABIC 세포를 환자의 FSHD 표현형과 일치하는 증가된 세포사멸을 나타내는지 여부에 대해 테스트하였다. 12ABIC 및 15ABIC 세포뿐만 아니라 2개의 상응하는 건강한 대조 세포인 12UBIC 및 15VBIC가 각각 성장한 후 세포사멸 마커인 Caspase 3에 대한 염색 후 2일 동안 분화되었다. 분석에는 양성 대조군으로 DAPI 염색도 포함되었다. 그런 다음, CellXpress PICO Imager를 사용하여 세포를 이미지화하고 분석하였다. 도 3b에 도시된 바와 같이, 12ABIC 및 15ABIC 세포는 분화 2일차에 건강한 형제 대조 근아세포인 12UBIC 및 15VBIC에 비해 세포사멸 수준이 증가하였다. 12ABIC, 15ABIC, 12UBIC, 및 15VBIC 세포는 CellXpress PICO Imager를 사용하여 분화 7일째까지 성장, 분화, 염색, 이미지화 및 분석되었다. 각 세포 유형에 대한 세포사멸 세포의 백분율을 분화 0, 1, 2, 및 7일에 플롯팅하였다(도 3c). 12ABIC 및 15ABIC 세포는 상응하는 건강한 대조군에 비해 2일과 7일에 더 높은 수준의 세포사멸을 나타냈다. 분화 중 세포사멸의 증가는 FSHD의 생체내 표현형과 일치하였다.

[0277] 12ABIC 및 15ABIC 세포가 건강한 형제 대조군과 비교하여 유사한 근아세포 분화를 가졌는지 확인하기 위하여, 4가지 세포 유형 모두 근육 세포 분화에 대한 마커로 사용되는 후기 근육 유전자인 미오신 중쇄(MYHC)에 대해 면역염색되었다(도 3d). 면역염색 분석에는 또한 양성 대조군으로서 DAPI 염색이 포함되었다. 또한, 4가지 세포

유형에 대해 qRT-PCR을 통해 MYHC, MYOG, 및 MyoMaker(MYMK)의 발현을 분석하였다(도 3e). GAPDH는 qRT-PCR에 포함되어 qRT-PCR 측정을 위한 내부 대조군이였다. MYOG는 골격근 분화를 조절하는 필수 근원성 조절 인자였으며 MYMK는 근육 세포 분화의 마커로 사용되는 후기 근육 유전자였다. 면역염색 및 qRT-PCR 실험의 결과는 12ABIC 및 15ABIC 세포가 상응하는 건강한 형제 대조군과 유사한 분화를 가짐을 보여주었다.

[0278] 전반적으로, 이러한 검증 실험의 결과는 12ABIC 및 15ABIC 세포가 FSHD 근아세포의 생체내 표현형을 나타내고 따라서 FSHD에 대한 적절한 시험관내 모델임을 보여주었다.

[0279] **실시예 3: 발현의 하향조절을 위한 DUX4 표적화**

[0280] 하향조절을 위한 DUX4를 표적화하기 위해, D4Z4 유전자좌의 5' 말단에서, 긴 비-코딩 RNA인 DBET를 코딩하는 영역을 포함하는, 전체 DZ4Z 영역 유전자좌에 걸쳐 있는 수많은 gRNA를 설계하였다. DZ4Z 영역 유전자좌는 반복 단위 삭제 시 DUX4 유전자 발현을 상향조절하는 것으로 알려져 있으며 DBET lncRNA는 DZ4Z 유전자좌에서 DUX4의 발현을 적극적으로 조절하는 것으로 나타났다. gRNA는 ChopChop CRISPR 가이드 설계 도구를 사용하여 설계되었다. gRNA를 설계할 때, Hg38 인간 게놈 조립체가 PAM 서열 요구 사항으로 TTTR과 함께 사용되었다. DZ4Z 유전자좌에 대해 설계된 gRNA의 맵은 도 4에 도시되어 있다.

[0281] gRNA가 설계되면, KRAB 조절인자와 결합된 Cas12f 변이체 작제물을 사용하여 다양한 gRNA를 테스트하였다. Cas12f-KRAB 이펙터-조절인자를 안정적으로 발현하는 12ABIC 세포는 12ABIC 근아세포의 렌티바이러스 형질도입 후 생성되었다. Cas12f-KRAB 이펙터-조절인자 벡터의 디자인은 도 5에 도시되어 있다. 상기 벡터에는 Cas12f 변이체 이펙터와 KRAB 및 DNMT3L 도메인의 발현을 구동하기 위한 근육 특이적 프로모터(CK8e)가 포함되어 있다. RNA 폴리머라제 III에 의해 구동되는 스캐폴드와 함께 sgRNA 스페이서 서열의 발현을 구동하기 위해 인간 U6g 프로모터가 포함되었다. 상기 벡터에는 변형된 WPRE 및 폴리아데닐화 조절 서열이 더 포함되어 있다. Cas12f-KRAB 이펙터-조절인자는 mCherry로 라벨링되었으므로, 형질도입 후 mCherry+ 세포는 농축을 위해 분류되었다. 농축 후, 78개의 가이드에 대해 어닐링된 crRNA:tracrRNA 작제물을 Cas12f-KRAB 이펙터-조절인자-발현 12ABIC 세포에 뉴클레오펙션시켰다. 7개 세포에 대한 근아세포의 분화 후, Quantigene 분석 프로브를 사용하여 세포의 DUX4(도 6a 및 6b) 및 MDB3L2(도 6b)의 발현에 대해 분석하였다. DUX4의 상대적 발현은 대조 유전자 HPRT1의 발현에 대해 정규화되었다. 실험은 다양한 gRNA가 Cas12f-KRAB 이펙터-조절인자를 발현하는 세포에서 DUX4 및 MDB3L2의 발현을 하향조절할 수 있음을 보여주었다. 또한, 서로 다른 gRNA에 의한 DUX4 및 MDB3L2의 하향조절은 양의 상관관계가 있었다(도 6b).

[0282] 초기 스크린으로부터, gRNA 중 6개를 추가로 테스트하였다. 6개의 gRNA는 2개의 서로 다른 Cas12f-KRAB 이펙터 조절인자 중 하나와 함께 불멸화된 환자 유래 FSHD 근아세포로 형질감염되었다. 2개의 서로 다른 Cas12f-KRAB 이펙터 조절인자는 2개의 서로 다른 DNMT3L 도메인(예: DNMT3L-K1a 또는 DNMT3L-K1b) 중 하나를 포함하였다. 형질감염 후, 세포를 분화시키고, DUX4 및 DUX4-표적 유전자인 MDB3L2, TRIM48, 및 MYOG의 발현을 형질감염 후 17일(도 7a) 및 18일(도 7b) 후에 qRT-PCR을 사용하여 분석하여 DUX4 억제제의 지속성을 측정하였다. MYOG는 DUX4 sgRNA 형질감염된 세포의 분화 능력이 대조군 sgRNA 형질감염된 근아세포와 유사함을 확인하기 위해 양성 대조군으로 포함되었다. 전반적으로, Cas12f-KRAB-DNMT3L 조절인자는 DUX4 및 DUX4 표적 유전자를 지속적으로 억제하는 것으로 나타났다.

[0283] Cas12f-KRAB-DNMT3L 조절인자로 처리된 환자 유래 근아세포에서 DUX4 및 DUX4-표적 유전자의 발현 수준을 테스트하는 것 외에도, 세포를 처리된 세포의 세포사멸 수준에 대해서도 테스트하였다. 처리된 세포는 분화 2일 후 세포사멸 마커인 Caspase-3에 대해 염색되었다. 염색 후, 고함량 Imager를 사용하여 세포사멸 양성 세포를 계수하고, DAPI(청색 세포)로 염색된 총 핵을 기준으로 양성 세포 백분율을 계산하였다. Cas12f-KRAB-DNMT3L 조절인자로 처리된 세포는 대조군 sgRNA로 형질감염된 세포에 비해 세포사멸의 감소를 보여주었다(도 8a 및 8b).

[0284] **실시예 4: 생체 외 FSHD 모델 확립 및 검증**

[0285] 불멸화된 건강한 형제 대조 세포 및 FSHD 골격 근아세포는 생체의 3D 연구를 위해 해동되고 확장될 수 있다. 골격 근아세포는 2D 표면으로 분할된 다음 본원에서 이의 전문이 참조로 포함되는, 문헌: Fayazi, M., "Passive-Stretch Induced Skeletal Muscle Injury Platform for Duchenne Muscular Dystrophic Modeling," *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 103권, 3호, 2022년 3월, e26페이지 1에 설명된 대로 확립된 Curi Bio 실험실 프로토콜에 따라 3D Mantarray 조직으로 조작될 수 있다. 간략하게, 3D 골격 근아세포 조직은 압축되도록 7일 동안 배양한 다음 14일 동안 추가로 배양할 수 있다. 기능적 측정은 일정 기간 동안 수축력을 평가하기 위해 배양 중에 일주일에 3회 수행할 수 있으며 기계적 힘, 장직성 힘 및 피로의 표현형 차이를 평가하기 위해

자극될 수 있다(도 9). 모델이 확립되면, 환자 유래 FSHD 골격 근아세포를 사용하여 3D 조직 형태, 유전자 발현 프로파일 및 기계적 힘 평가에서 구조를 위한 DZ4Z 유전자좌를 표적으로 하는 Cas12f 이펙터 조절인자 AAV와 대조군의 효능을 테스트할 수 있다.

[0286] 일부 경우에, 본원에 개시된 시스템, 조성물 또는 방법으로 처리되는 3D-골격 근아세포 조직(예를 들어 DUX4와 같은 DZ4Z 반복 배열에 의해 코딩되는 유전자의 발현 수준 또는 후성적 수준을 조절하기 위해)은 대조군 3D-골격 근아세포 조직(예를 들어, 본원에 개시된 시스템, 조성물 또는 방법으로 처리되지 않음)과 비교하여, (i) 향상된 기계적 힘(예: 최대 기계적 힘, 일정 기간 동안의 평균 기계적 힘), (ii) 향상된 강직성 힘(예: 골격근에 신경을 분포시키는 모토 신경이 매우 빠른 속도로 활동 전위를 방출할 때 환기된 지속적인 근육 수축의 지표인 힘), 및/또는 (iii) 피로감 감소(예: 고정되고 움직일 수 없는 물체에 대한 수축을 통해 측정(정적 테스트 또는 등각 측정)), 또는 제어된 속도에서의 동적 근육 수축(반복 수축 또는 등속성 평가)를 나타냄을 특징으로 할 수 있다.

[0287] 일부 경우에, 본원에 개시된 시스템, 조성물 또는 방법으로 치료되는 3D-골격 근아세포 조직은 대조군 3D-골격 근아세포 조직에서보다 적어도 또는 최대 약 1%, 적어도 또는 최대 약 5%, 적어도 또는 최대 약 10%, 적어도 또는 최대 약 15%, 적어도 또는 최대 약 20%, 적어도 또는 최대 약 30%, 적어도 또는 최대 약 40%, 적어도 또는 최대 약 50%, 적어도 또는 최대 약 60%, 적어도 또는 최대 약 70%, 적어도 또는 최대 약 80%, 적어도 또는 최대 약 90%, 적어도 또는 최대 약 95%, 적어도 또는 최대 약 100%, 적어도 또는 최대 약 120%, 적어도 또는 최대 약 150%, 적어도 또는 최대 약 200%, 적어도 또는 최대 약 300%, 적어도 또는 최대 약 400%, 또는 적어도 또는 최대 약 500% 더 큰 기계적 힘을 나타내는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0288] 일부 경우에, 본원에 개시된 시스템, 조성물 또는 방법으로 치료되는 3D-골격 근아세포 조직은 대조군 3D-골격 근아세포 조직에서보다 적어도 또는 최대 약 1%, 적어도 또는 최대 약 5%, 적어도 또는 최대 약 10%, 적어도 또는 최대 약 15%, 적어도 또는 최대 약 20%, 적어도 또는 최대 약 30%, 적어도 또는 최대 약 40%, 적어도 또는 최대 약 50%, 적어도 또는 최대 약 60%, 적어도 또는 최대 약 70%, 적어도 또는 최대 약 80%, 적어도 또는 최대 약 90%, 적어도 또는 최대 약 95%, 적어도 또는 최대 약 100%, 적어도 또는 최대 약 120%, 적어도 또는 최대 약 150%, 적어도 또는 최대 약 200%, 적어도 또는 최대 약 300%, 적어도 또는 최대 약 400%, 또는 적어도 또는 최대 약 500% 더 큰 강직성 힘을 나타내는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0289] 일부 경우에, 본원에 개시된 시스템, 조성물 또는 방법으로 치료되는 3D-골격 근아세포 조직은 대조군 3D-골격 근아세포 조직에서보다 적어도 또는 최대 약 1%, 적어도 또는 최대 약 5%, 적어도 또는 최대 약 10%, 적어도 또는 최대 약 15%, 적어도 또는 최대 약 20%, 적어도 또는 최대 약 30%, 적어도 또는 최대 약 40%, 적어도 또는 최대 약 50%, 적어도 또는 최대 약 60%, 적어도 또는 최대 약 70%, 적어도 또는 최대 약 80%, 적어도 또는 최대 약 90%, 적어도 또는 최대 약 95%, 적어도 또는 최대 약 99%, 또는 적어도 또는 최대 약 100% 더 작은 피로를 나타내는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0290] **실시예 5: DUX4 표적화를 위한 생체 내 FSHD 모델**

[0291] 지정된 날 -7일째의 아침에, 복강내 투여된 90 내지 200 mg/mg의 케타민 및 10 mg/kg의 자일라진을 사용하여 마우스를 마취시킬 수 있다. 마우스의 뒷다리는 11 내지 12분에 걸쳐 2.2 Gy/분으로 25Gy의 X-조사를 받을 수 있다. 6일 후, 0.3 mg/kg의 심장독소 60 μ l를 TA 근육 길이를 따라 투여하여 분해를 촉진할 수 있다. 하루 후, 60 μ l의 2E10⁶ 인간 근아세포를 TA 근육을 따라 투여할 수 있다. 이소플루란 마취는 후속 심장독소 및 인간 근아세포 투여에 사용될 수 있다. 근아세포 투여 1일 후, 이전 실시예의 Cas12f 조절인자 벡터 및 대조군 AAVrh74 벡터를 안와후 주사를 통해 투여할 수 있다. 4일째와 21일째에 동물을 안락사시킬 수 있다. TA 근육 및 기타 주요 기관(예: 심장, 폐, 간)을 수확할 수 있다. 수확된 TA 근육은 단면화, 고정 및 H&E 염색할 수 있다. 나머지 장기를 가공하고, 전체 RNA/DNA를 추출하여 qRT-PCR을 사용하여 유전자 발현 실험을 수행할 수 있다. 유전자 발현 실험은 DUX4 및 DUX4 표적 유전자의 발현을 측정하여 DUX4 억제 수준을 결정할 수 있다. 유전자 발현 실험은 DUX4의 하나 이상의 하류 유전자, 예를 들어 ZSCAN4, LEUTX, MBD3L2, TRIM48, 및/또는 TRIM43의 발현을 측정할 수 있다. 유전자 발현 실험은 또한 마우스에서 인간 근아세포의 농축뿐만 아니라 특정 조직에 대한 AAV 친화성을 조사할 수도 있다. 실험의 작업 흐름은 도 10에 도시되어 있다.

[0292] **표 2.** 표적 세포(예를 들어, 근육 세포)에서 DZ4Z 반복 배열에 의해 코딩되는 유전자(예를 들어, DUX4)의 발현 수준 또는 후성적 수준을 변형시키기 위한 표적 폴리뉴클레오티드 서열에 결합하기 위한 가이드 RNA 분자

| 서열번호 | 명칭 | 서열 |
|------|-----------|----------------------------|
| 45 | DUX4_gRNA | TTTAAAGAGATCTGGGGATCTATA |
| 46 | DUX4_gRNA | TTTAAAGAATGGGAAAATTACGGG |
| 47 | DUX4_gRNA | TTTAACTTGAAACACAGCGAAGT |
| 48 | DUX4_gRNA | TTTGCCTGTGAGTTCGAATGCACT |
| 49 | DUX4_gRNA | TTTGATGAAGTCTGGCTTACAGCC |
| 50 | DUX4_gRNA | TTTGCATATCTGATGGAGAAGCTTA |
| 51 | DUX4_gRNA | TTTGGGAATGTGTTTGTGAAGCAC |
| 52 | DUX4_gRNA | TTTGAATATACTGTGGTCATCTCT |
| 53 | DUX4_gRNA | TTTGCCTGGAGCAGAGATGACCA |
| 54 | DUX4_gRNA | TTTATTCTACTCTGCAATCCCCTA |
| 55 | DUX4_gRNA | TTTAAGATTCTGGGAGGGAGAGAA |
| 56 | DUX4_gRNA | TTTATAAATCTATTGTGCCTCAAG |
| 57 | DUX4_gRNA | TTTGATGAGTGCTGTATAGATCCC |
| 58 | DUX4_gRNA | TTTGCTACAGCACTAGTAAACTG |
| 59 | DUX4_gRNA | TTTACTGAGCCAGTCTTTAAATGC |
| 60 | DUX4_gRNA | TTTATAAAAAATGGCATGACAAGG |
| 61 | DUX4_gRNA | TTTATCAAAAAGCCAAACATTTCA |
| 62 | DUX4_gRNA | TTTGCTCACTGAGAATGCATAAGA |
| 63 | DUX4_gRNA | TTTAAGTTCTCCATCAGATATGCA |
| 64 | DUX4_gRNA | TTTATAAATTCACACTACAGAGACAC |
| 65 | DUX4_gRNA | TTTGAATCTGGAAAGTTCTTAGC |
| 66 | DUX4_gRNA | TTTGTTGATATTTGCTCATTCTG |
| 67 | DUX4_gRNA | TTTATGTTTTCTTCCAATGGGGA |
| 68 | DUX4_gRNA | TTTGTAAGCACCTAGAATCTATA |
| 69 | DUX4_gRNA | TTTAAAGACTGGCTCAGTAAAGGG |
| 70 | DUX4_gRNA | TTTAATTCTCCTGAAGGAGATA |
| 71 | DUX4_gRNA | TTTAAATTCACACTCAGTTGTCTCT |
| 72 | DUX4_gRNA | TTTGTGTCTGCTGAGAAGAAAGAT |
| 73 | DUX4_gRNA | TTTGATAAATTGTCTAATGACTAG |
| 74 | DUX4_gRNA | TTTATTTTTTCAACCAGAACAGTA |
| 75 | DUX4_gRNA | TTTGCTGTTGTCTCTGTAGTGA |
| 76 | DUX4_gRNA | TTTAAAATATTAGTTTCCAGGACT |
| 77 | DUX4_gRNA | TTTAAATGCTAGATTTGATGAGTG |
| 78 | DUX4_gRNA | TTTAAAAGACTCTATCTCTGAATG |
| 79 | DUX4_gRNA | TTTATGTTCTCACAAGATTCTGGG |
| 80 | DUX4_gRNA | TTTATGCCATTTTCTCCCTCTATT |
| 81 | DUX4_gRNA | TTTGGCATTGCTTTTGGGGATCTG |

[0293]

| | | |
|-----|-----------|---------------------------|
| 82 | DUX4_gRNA | TTTAAACAATAAAGATTTTTGCAT |
| 83 | DUX4_gRNA | TTTAAAAATAACGAATGAGCAAAA |
| 84 | DUX4_gRNA | TTTGAAATACAGTATTTCCAGAT |
| 85 | DUX4_gRNA | TTTGGGGATCTGGGAAAATCTGTG |
| 86 | DUX4_gRNA | TTTGGCTTTTTGATAAATTGTCTA |
| 87 | DUX4_gRNA | TTTGCTCATTGCTTATTTTTAAAT |
| 88 | DUX4_gRNA | TTTATAAACTCAGTTATTATATT |
| 89 | DUX4_gRNA | TTTAAAAACCCACAGAAATCATA |
| 90 | DUX4_gRNA | TTTGTGAATAATATATGTTCAATT |
| 91 | DUX4_gRNA | TTTATCTCTTGTGATATTTTGC |
| 92 | DUX4_gRNA | TTTAGATTCTATTGTATATTTCT |
| 93 | DUX4_gRNA | TTTAAAAAGAATAGAGGGAGAAAA |
| 94 | DUX4_gRNA | TTTATTTTAATCTTTGAAAGTCTT |
| 95 | DUX4_gRNA | TTTATTTGTTAAAATTCAGTTTCT |
| 96 | DUX4_gRNA | TTTGTTAAAATTCAGTTTCTGAAT |
| 97 | DUX4_gRNA | TTTAATCTTTGAAAGTCTTTATTT |
| 98 | DUX4_gRNA | TTTACAAGGGCGGCTGGCTGGGTG |
| 99 | DUX4_gRNA | TTTGTCCCGGAGGAAACCGCCAC |
| 100 | DUX4_gRNA | TTTGCCCTCCGCAAGGCGGCCTGT |
| 101 | DUX4_gRNA | TTTGGTTTCCGCGTGGCTTTGCC |
| 102 | DUX4_gRNA | TTTAAAAAAAAAATCACAAGGCA |
| 103 | DUX4_gRNA | TTTGAAAGTCTTTATTTTTTCTA |
| 104 | DUX4_gRNA | TTTACAAGGGCGGCTGGCTGGCTG |
| 105 | DUX4_gRNA | TTTAAAAATAGTTTTATCTCTT |
| 106 | DUX4_gRNA | TTTATTTTTTCTAATTTTTGAAA |
| 107 | DUX4_gRNA | TTTGCCCGGCTGCGGAGGCCAGCG |
| 108 | DUX4_gRNA | TTTAGGACGCGGGGTTGGGACGGG |
| 109 | DUX4_gRNA | TTTGCCCGGCTGCGGAGGCCACCG |
| 110 | DUX4_gRNA | TTTGGAACCTGGCAAGGAGAGCGA |
| 111 | DUX4_gRNA | TTTGCGGGCAGCCGCTGGGCTGT |
| 112 | DUX4_gRNA | TTTGGCTCGGGTCCAAACGAGTC |
| 113 | DUX4_gRNA | TTTGAGCGGAACCCGTACCCGGGC |
| 114 | DUX4_gRNA | TTTGGACCCGAGCCAAAGCGAGG |
| 115 | DUX4_gRNA | TTTGCTCCCGGAGCTCTGCGGGCA |
| 116 | DUX4_gRNA | TTTACTCCCGGAGCTCTGCGGGCA |
| 117 | DUX4_gRNA | TTTGTTTTCAGAATGAGAGGTCAC |
| 118 | DUX4_gRNA | TTTACAAGAGAAAAACAAAAACC |
| 119 | DUX4_gRNA | TTTGAGAAGGATCGCTTTCCAGGC |
| 120 | DUX4_gRNA | TTTGTTTTTCTTTGTAATTTTT |
| 121 | DUX4_gRNA | TTTAATAGGGTTTTTTGTTTTTCT |
| 122 | DUX4_gRNA | TTTGTCCGGAGGAAACCGCCACT |
| 123 | DUX4_gRNA | TTTGACCGCCAGGAGCTCCGCGCT |
| 124 | DUX4_gRNA | TTTACATGAGTTTCTACTACATAC |
| 125 | DUX4_gRNA | TTTGGATTCGGGTTTCAAGGTAAGA |
| 126 | DUX4_gRNA | TTTAGGGTTAGGGTAGTGAAATA |
| 127 | DUX4_gRNA | TTTGGCTTATAGGGGCTTTGTGAG |
| 128 | DUX4_gRNA | TTTGTGGTAAAGAGTTGTGATTCT |

[0294]

| | | |
|-----|-----------|---------------------------|
| 129 | DUX4_gRNA | TTTGGCCTACAGGGGGCTTTGTGA |
| 130 | DUX4_gRNA | TTTATTCACATAAATACAAATCACA |
| 131 | DUX4_gRNA | TTTATCAGTGAATTATTAGTCAT |
| 132 | DUX4_gRNA | TTTGCAGAGATATGTCACAATCCC |
| 133 | DUX4_gRNA | TTTGGTCTAGTTTTATCAACAGAG |
| 134 | DUX4_gRNA | TTTGTCCAGTATGCTGCGGGTTGT |
| 135 | DUX4_gRNA | TTTGTTTCTGCAATATGTCACAA |
| 136 | DUX4_gRNA | TTTACACTACCCTAACCTAAACC |
| 137 | DUX4_gRNA | TTTGGAACGTAGGATGTTCCATT |
| 138 | DUX4_gRNA | TTTATGACTAATAATTACACTGAT |
| 139 | DUX4_gRNA | TTTAGCAGGAACACACTACCTTTC |
| 140 | DUX4_gRNA | TTTATCAACAGAGCTAGTATTTAC |
| 141 | DUX4_gRNA | TTTAGCCTCTGCCTACAGGAGGCA |
| 142 | DUX4_gRNA | TTTACATCTCCTGAGTGAGCATTG |
| 143 | DUX4_gRNA | TTTGTCCATGATTTAGCAGGAACA |
| 144 | DUX4_gRNA | TTTGTCTAGAGAGATGTGGCAGGA |
| 145 | DUX4_gRNA | TTTGGGGGACGTGCTCCTTCTGCA |
| 146 | DUX4_gRNA | TTTAAGATGAAGCCCTTTGCTCC |
| 147 | DUX4_gRNA | TTTACCACAAACAACACAGCTTCA |
| 148 | DUX4_gRNA | TTTGTGTGTGTGTAATGAGAACA |
| 149 | DUX4_gRNA | TTTAAGGAAAATATGCTAATTTTA |
| 150 | DUX4_gRNA | TTTAGATTCATATGGGAATACTGA |
| 151 | DUX4_gRNA | TTTATATTACACTATTACTTAATA |
| 152 | DUX4_gRNA | TTTAGCTGAGGGAGATTGAGTGAC |
| 153 | DUX4_gRNA | TTTAGAATGCTACCTATTGCCTTC |
| 154 | DUX4_gRNA | TTTGCTCCTCCTTAAGGATGTCT |
| 155 | DUX4_gRNA | TTTGTCTTCAAAGAATGGCCTTGG |
| 156 | DUX4_gRNA | TTTGGAGTTTAAAATTAGCATATT |
| 157 | DUX4_gRNA | TTTAGCTTTCTGGAACCTGGTATG |
| 158 | DUX4_gRNA | TTTACTGATCAACCAGATGATGTA |
| 159 | DUX4_gRNA | TTTAAAATTAGCATATTTTCCTTA |
| 160 | DUX4_gRNA | TTTGGTGATATATGACACAGAGAT |
| 161 | DUX4_gRNA | TTTGATTCTGATGTAAGAAATGAT |
| 162 | DUX4_gRNA | TTTGCATCTCTGTGCATATATCA |
| 163 | DUX4_gRNA | TTTAAACTCAAATACTTATGAAT |
| 164 | DUX4_gRNA | TTTGAAGACAAACATGTCTTAATA |
| 165 | DUX4_gRNA | TTTGCCTAGACAGCGTCGGAAGGT |
| 166 | DUX4_gRNA | TTTATTATTAGTAATAATGTGAAA |
| 167 | DUX4_gRNA | TTTGTATTTAGTGAATAAAAACAA |
| 168 | DUX4_gRNA | TTTGTTTTTATTCACATAAATACAA |
| 169 | DUX4_gRNA | TTTAGATCACCTAGGTGATCAGTG |
| 170 | DUX4_gRNA | TTTGTCTTATTTAAGGAAAATA |
| 171 | DUX4_gRNA | TTTAGTGAATAAAAACAAACAAAA |
| 172 | DUX4_gRNA | TTTGTTTGTTTTTATTCACATAAT |
| 173 | DUX4_gRNA | TTTAGGCAGATCCTAGAAAAGAGT |
| 174 | DUX4_gRNA | TTTGCATCTTTGTGTGATGAGTG |
| 175 | DUX4_gRNA | TTAATATATCTCTGAACATAATCA |

[0295]

| | | |
|-----|-----------|--------------------------|
| 176 | DUX4_gRNA | TTTGTCTAGGCTCTGCTTACTTGG |
| 177 | DUX4_gRNA | TTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTATG |
| 178 | DUX4_gRNA | TTTGACATATGTCTGCACTGATGA |
| 179 | DUX4_gRNA | TTTGCCCGCTTCTGGCTAGACCT |
| 180 | DUX4_gRNA | TTTGTCTAGGCTCTGGCTACACAG |
| 181 | DUX4_gRNA | TTTGTGTGATGAGTGCAGAGATAT |
| 182 | DUX4_gRNA | TTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGG |
| 183 | DUX4_gRNA | TTTGTCTAGGCTCTGCCTACATAG |
| 184 | DUX4_gRNA | TTTAACATATCTCTACACTGATCA |
| 185 | DUX4_gRNA | TTTGCCTATGGGGGCAATGTGACA |
| 186 | DUX4_gRNA | TTTGAGATATCTCTGCACTGATCA |
| 187 | DUX4_gRNA | TTTGTGATATATATTCCACTGCT |
| 188 | DUX4_gRNA | TTTGAGCAGTGAAATATATATCA |
| 189 | DUX4_gRNA | TTTACATAACTTCGGTGATCAGTG |
| 190 | DUX4_gRNA | TTTAGGCACAGCTTAGACAAGCGT |
| 191 | DUX4_gRNA | TTTGTCAAGGATATGGCTACAGGG |
| 192 | DUX4_gRNA | TTTGTGAGATATCTCTGCACTGAT |
| 193 | DUX4_gRNA | TTTGTGACATACTTCTGTACTGAT |
| 194 | DUX4_gRNA | TTTGCTCTGATCACCCAGGTGATG |
| 195 | DUX4_gRNA | TTTGTTGATCAGTTCAGAGATGTG |
| 196 | DUX4_gRNA | TTTGTCTACGCTCTGCCTATGGGG |
| 197 | DUX4_gRNA | TTTGTCTACAGGGGGCTTTGTGAT |
| 198 | DUX4_gRNA | TTTGTGAAATTCCTGTAGGCAG |
| 199 | DUX4_gRNA | TTTGTGACATACCTTTGCTCTGAT |
| 200 | DUX4_gRNA | TTTAGGCAGAGCTTAGACTAGAGT |
| 201 | DUX4_gRNA | TTTGTCTAGGCTCTGTCTACGGGG |
| 202 | DUX4_gRNA | TTTGACATATCTCTGCACTGTTAA |
| 203 | DUX4_gRNA | TTTGGCAGAGCCTAGACAAGGGTT |
| 204 | DUX4_gRNA | TTTGCCTACAGAAGGCTTTGTGAC |
| 205 | DUX4_gRNA | TTTGTCTACAGGGGGCTTTGTGAC |
| 206 | DUX4_gRNA | TTTGACACAATGCCCCATAGACA |
| 207 | DUX4_gRNA | TTTGTGACTTCTCTGCACTGAT |
| 208 | DUX4_gRNA | TTTGTGACATAACTCTGCACTAAT |
| 209 | DUX4_gRNA | TTTGACATAGCTCTGCACAGATCA |
| 210 | DUX4_gRNA | TTTAAGCAGAGCCTAGACAATAGT |
| 211 | DUX4_gRNA | TTTGTGACATATCTTTGCACTGAT |
| 212 | DUX4_gRNA | TTTGCCTACAGGGGACATTGTGAC |
| 213 | DUX4_gRNA | TTTGTCTAGGCTCTGCCTAAGGGG |
| 214 | DUX4_gRNA | TTTGTGATCAGTTCAGGGATATGT |
| 215 | DUX4_gRNA | TTTGCCTGATCACCCAGGAGATG |
| 216 | DUX4_gRNA | TTTGTGACACATCTCTGCACTGAT |
| 217 | DUX4_gRNA | TTTGTGACATATCCCTGCAATGAT |
| 218 | DUX4_gRNA | TTTATAAGCACTGCCTACAGGGAA |
| 219 | DUX4_gRNA | TTTGTGACATATTTCTGCACTGAT |
| 220 | DUX4_gRNA | TTTGTGACATATCACTGCACTGAT |
| 221 | DUX4_gRNA | TTTGACATATCTCTGCACTGATCA |
| 222 | DUX4_gRNA | TTTGTGACATATCTATGCACTGAT |

[0296]

| | | |
|-----|-----------|---------------------------|
| 223 | DUX4_gRNA | TTTATGACTTATCCCTGCACTGAT |
| 224 | DUX4_gRNA | TTTGTGACATATCTCTGCACAGAT |
| 225 | DUX4_gRNA | TTTGTGACATATCTCTGCACTGAT |
| 226 | DUX4_gRNA | TTTGAGATGGAGTCTTGCTCTGTT |
| 227 | DUX4_gRNA | TTTGTATTTTTAGTAGAGACGAGG |
| 228 | DUX4_gRNA | TTTGCTATCAAAAGCTTGGGTCAA |
| 229 | DUX4_gRNA | TTTAAAAGAACACTTGCGGTGTTT |
| 230 | DUX4_gRNA | TTTAAAAGATCTCTGTGGCCAGGC |
| 231 | DUX4_gRNA | TTTGAAGTATAGATACAGCAGAAG |
| 232 | DUX4_gRNA | TTTAAAATATTTAACATTTAGCCC |
| 233 | DUX4_gRNA | TTTGATAGCAAAAGGTAGAAAAGA |
| 234 | DUX4_gRNA | TTTGGAGAATGAAAACGTGCAGTA |
| 235 | DUX4_gRNA | TTTGAAGGAGATCTCACAACAGG |
| 236 | DUX4_gRNA | TTTAGAAAGGAAACAGGCTGGAAA |
| 237 | DUX4_gRNA | TTTGCTGCAAAATAAATACACGCT |
| 238 | DUX4_gRNA | TTTATCATCTATCTATCTACCTCC |
| 239 | DUX4_gRNA | TTGTTTGAAGTATAGATACAGCA |
| 240 | DUX4_gRNA | TTTGCAACTGTGGGTTTTCCAGCC |
| 241 | DUX4_gRNA | TTTAAAACAAGAACTCTTGTAGGA |
| 242 | DUX4_gRNA | TTTGCACCTTAAATCTGTGAAATC |
| 243 | DUX4_gRNA | TTTGTGCTTCAAACACCGCAAGT |
| 244 | DUX4_gRNA | TTTACATCCATGATTTTTCACTGT |
| 245 | DUX4_gRNA | TTTGTCCATCTCACCTCTCCAGAT |
| 246 | DUX4_gRNA | TTTGAAGGTTAGAACTAGTGGTCT |
| 247 | DUX4_gRNA | TTTAAGGTGCAAAAAGTCACTGGG |
| 248 | DUX4_gRNA | TTTACTTACAACGCAGACTGTGT |
| 249 | DUX4_gRNA | TTTGTACAGCAGCCTTTGTCGCT |
| 250 | DUX4_gRNA | TTTGAAGCGACAAAGGCTGCTGTG |
| 251 | DUX4_gRNA | TTTGTTCACATTACAGAGTGGG |
| 252 | DUX4_gRNA | TTTGCCACACCTTGTTTTAGAAAG |
| 253 | DUX4_gRNA | TTTAATCTCAGTGACAGGGGAACA |
| 254 | DUX4_gRNA | TTTAAAAGAATTATCAACCTTT |
| 255 | DUX4_gRNA | TTTGCCTCATCTTTGTTTGAAGT |
| 256 | DUX4_gRNA | TTTATGATGTGATGGAGAATTCCT |
| 257 | DUX4_gRNA | TTTACTAATCTGCTTATTACCCAC |
| 258 | DUX4_gRNA | TTTGTGAGATCTCCTCAAATACT |
| 259 | DUX4_gRNA | TTTGTGCATTGTCTGTTACTGTGT |
| 260 | DUX4_gRNA | TTTGCAGCAAACATTTACATCCAT |
| 261 | DUX4_gRNA | TTTACTATCTGTCTTTTCTACCTT |
| 262 | DUX4_gRNA | TTTATGCCTGGCCTTTCCATCCTT |
| 263 | DUX4_gRNA | TTTGGTTTTGAAGGTTAGAACTA |
| 264 | DUX4_gRNA | TTTAAATGGTAGAGTGAACATACA |
| 265 | DUX4_gRNA | TTTGCCTTGCAACTGTGGGTTTTTC |
| 266 | DUX4_gRNA | TTTAGAAAGCTCAGGTTTATGATG |
| 267 | DUX4_gRNA | TTTAAAAAAAATTCCTTTCACTG |
| 268 | DUX4_gRNA | TTTAAATTTTCCAAGCCATATGGT |
| 269 | DUX4_gRNA | TTTGGTTCATGAAATTTTCAGTTT |

[0297]

| | | |
|-----|-----------|----------------------------|
| 270 | DUX4_gRNA | TTTGTTTTAATCTCAGTGACAGGG |
| 271 | DUX4_gRNA | TTTAAAACAAGAGTCAGCAAATAT |
| 272 | DUX4_gRNA | TTTGTTGAGAAAAATGAGTTGGA |
| 273 | DUX4_gRNA | TTTATTTGCAGCAAACATTTACA |
| 274 | DUX4_gRNA | TTTGCTGACTCTGTTTTAAAAGA |
| 275 | DUX4_gRNA | TTTGTTGTTTGCTTTTCTGTGGGG |
| 276 | DUX4_gRNA | TTTGCTTTTCTGTGGGGTTTTTGT |
| 277 | DUX4_gRNA | TTAACATTTAGCCCTTTCAGAA |
| 278 | DUX4_gRNA | TTTGACTTCTCCTCTGTTTTTTG |
| 279 | DUX4_gRNA | TTTGAAAATAATTAAGCAATATCT |
| 280 | DUX4_gRNA | TTTAGCCCTTTCAGAAAATATTT |
| 281 | DUX4_gRNA | TTTAAAAAAGCAAACAACAACAA |
| 282 | DUX4_gRNA | TTTGCTTTTTTTAAAAAAATTCC |
| 283 | DUX4_gRNA | TTTGTAAGTAAAGTTGTAATGGGA |
| 284 | DUX4_gRNA | TTTGTTGTTGTTTGCTTTTCTGT |
| 285 | DUX4_gRNA | TTTGAGAAAATATTTGCTGACTC |
| 286 | DUX4_gRNA | TTTGGGATGCCGAGGCTAGCCGAT |
| 287 | DUX4_gRNA | TTTGTTGTTGTTGTTTGCTTTTTT |
| 288 | DUX4_gRNA | TTTGTTTGTGTTGTTTGCTTTT |
| 289 | DUX4_gRNA | TTTAGTAGAGACGAGGTTTCACTG |
| 290 | DUX4_gRNA | TCTAATGACTAGATTCTTCTCTC |
| 291 | DUX4_gRNA | TCTGGCCTGTCCGTGACGTTTAA |
| 292 | DUX4_gRNA | TCTATAGCCTGGACTATTGCTGTC |
| 293 | DUX4_gRNA | TCTGTTATAGTTTTGCTCACTGAG |
| 294 | DUX4_gRNA | TCTGGAAACAGTTTGCCTGGAGC |
| 295 | DUX4_gRNA | TCTGGGGATCTATACAGCACTCAT |
| 296 | DUX4_gRNA | TCTATATGACTCCATCATGTCCTT |
| 297 | DUX4_gRNA | TCTGGCTTACAGCCTGTCCACTGC |
| 298 | DUX4_gRNA | TCTGCAATCCCCTAAGGCTTTTTT |
| 299 | DUX4_gRNA | TCTGGACTTCGCTGTGTTTCCAAG |
| 300 | DUX4_gRNA | TCTGCTCCAGTGCAAACCTGTTTCC |
| 301 | DUX4_gRNA | TCTAGTCATTAGACAATTTATCAA |
| 302 | DUX4_gRNA | TCTGTGCACACTTCTGGAGACCCT |
| 303 | DUX4_gRNA | TCTATACAGCACTCATCAAATCTA |
| 304 | DUX4_gRNA | TCTACTCTGCAATCCCCTAAGGCT |
| 305 | DUX4_gRNA | TCTGGGAGGATTTTGCCTGTGAGT |
| 306 | DUX4_gRNA | TCTGGAAAGTTCTTAGCATCCCCG |
| 307 | DUX4_gRNA | TCTAGCATTTAAAGACTGGCTCAG |
| 308 | DUX4_gRNA | TCTATTTTCTTGCTGTAACAGAG |
| 309 | DUX4_gRNA | TCTAGTAGTTAACACCTCAGCTT |
| 310 | DUX4_gRNA | TCTGAATGTATTGGTCTACTTGAT |
| 311 | DUX4_gRNA | TCTGCTCCATTGTTGCTGTTGTG |
| 312 | DUX4_gRNA | TCTATCTCTGAATGTATTGGTCTA |
| 313 | DUX4_gRNA | TCTGTTACAGCAAGGAAAATAGAA |
| 314 | DUX4_gRNA | TCTGCTGAGAAGAAAGATGAGTGT |
| 315 | DUX4_gRNA | TCTGATGGAGAAGCTAAAATAATC |
| 316 | DUX4_gRNA | TCTGGAGACCCTTGTGTCATGCCATT |

[0298]

| | | |
|-----|-----------|---------------------------|
| 317 | DUX4_gRNA | TCTGACTTGAGGCACAATAGATT |
| 318 | DUX4_gRNA | TCTAGGTGCTTCACAAACACATT |
| 319 | DUX4_gRNA | TCTGTGGTATTGCAGTTTCTACTAG |
| 320 | DUX4_gRNA | TCTGTAGTGAATTTATAAACTCA |
| 321 | DUX4_gRNA | TCTATTGTATATTTTCTCCCCAG |
| 322 | DUX4_gRNA | TCTGCCTTCTCTGTGTGCCTTGTG |
| 323 | DUX4_gRNA | TCTACTGTTTTAATTCTCTCCTGA |
| 324 | DUX4_gRNA | TCTGGGAGGGGAGAGAAAAGCCTT |
| 325 | DUX4_gRNA | TCTGGGTGAAAAATAAACTGCAG |
| 326 | DUX4_gRNA | TCTGGGAAAATCTGTGCACACTTC |
| 327 | DUX4_gRNA | TCTATTGTGCCTCAAGTCAGAAGT |
| 328 | DUX4_gRNA | TCTGACTAGTTTGGCATTGCTTTT |
| 329 | DUX4_gRNA | TCTGGGAAATACTGTATTTCAAAA |
| 330 | DUX4_gRNA | TCTATTCTTTTTAAAAGACTCTAT |
| 331 | DUX4_gRNA | TCTGAAATAATGTTTATGCCATTT |
| 332 | DUX4_gRNA | TCTGTCCGGCCCCACCACCACCAC |
| 333 | DUX4_gRNA | TCTGCACCAATGAAAAAAAATTT |
| 334 | DUX4_gRNA | TCTAAAATACATTGAGAAAAAATT |
| 335 | DUX4_gRNA | TCTATGATTTCTGTTGGGTTTTTA |
| 336 | DUX4_gRNA | TCTAATTTTTGAAATACAGTATTT |
| 337 | DUX4_gRNA | TCTGAATATTTATGTTTTTCTCC |
| 338 | DUX4_gRNA | TCTGTTGGGTTTTTAAAAATAGTT |
| 339 | DUX4_gRNA | TCTGTGTGCCTTGTGATTTTTTTT |
| 340 | DUX4_gRNA | TCTACTTGATGGTGTCCAGTAAGT |
| 341 | DUX4_gRNA | TCTGTGAACCGCGCGGGTGAAGAC |
| 342 | DUX4_gRNA | TCTGTGAACCGCGCGGGTGAAGAC |
| 343 | DUX4_gRNA | TCTGGCGGGCCGCTCTCCCGGGC |
| 344 | DUX4_gRNA | TCTAGGTCTCCCGTTCTCTCTCC |
| 345 | DUX4_gRNA | TCTACGTGGAATGAACGAGAGCC |
| 346 | DUX4_gRNA | TCTGTCTTCCCTCCGTTCCCTCC |
| 347 | DUX4_gRNA | TCTGCCCCCTTCCCTCCCGCCTG |
| 348 | DUX4_gRNA | TCTGCCCCGCGCGCGGAGGCGG |
| 349 | DUX4_gRNA | TCTGCGCCCCGCGCCACCGTCGC |
| 350 | DUX4_gRNA | TCTGGGCTCCACGCGTCCGGCAGC |
| 351 | DUX4_gRNA | TCTGGCCAGCTCCTCCCGGGCGGC |
| 352 | DUX4_gRNA | TCTGCCCCGCGCGCGGAGGCGT |
| 353 | DUX4_gRNA | TCTGCCCCGCTCCGTCCTGAAAT |
| 354 | DUX4_gRNA | TCTGCCGTCCGCGGCTGGCTGGGC |
| 355 | DUX4_gRNA | TCTAGGAGAGGTTGCGCCTGCTGC |
| 356 | DUX4_gRNA | TCTGCAGCAGGCGCAACTCTCT |
| 357 | DUX4_gRNA | TCTGCGTTCGCGCGCCAGGCGCTC |
| 358 | DUX4_gRNA | TCTAGGCCCGGTGAGAGACTCCAC |
| 359 | DUX4_gRNA | TCTGGTCTTCTACGTGGAATGAA |
| 360 | DUX4_gRNA | TCTGCAGTGTGGCCGGTTTGGAAC |
| 361 | DUX4_gRNA | TCTAGGTCTAGGCCCGGTGAGAGA |
| 362 | DUX4_gRNA | TCTGCACTCCCCTGCGGCCTGCTG |
| 363 | DUX4_gRNA | TCTGGGGTCTCGCTCTGTCTTCT |

[0299]

| | | |
|-----|-----------|--------------------------|
| 364 | DUX4_gRNA | TCTGGTGGCGATGCCCGGTACGG |
| 365 | DUX4_gRNA | TCTGGGATCCGGTGACGGCGGTCC |
| 366 | DUX4_gRNA | TCTGCTGGAGGAGCTTTAGGACGC |
| 367 | DUX4_gRNA | TCTGCCGGCGCGCCTGGCTGGGC |
| 368 | DUX4_gRNA | TCTGGGATCCCCGGGATGCCCAGG |
| 369 | DUX4_gRNA | TCTGCCCGGGCTGCTCCACAGCC |
| 370 | DUX4_gRNA | TCTGAATCCTGGACTCCGGGAGGC |
| 371 | DUX4_gRNA | TCTGCGGGCACCCGGAACATGCA |
| 372 | DUX4_gRNA | TCTGGACCCTGGGCTCCGGAATGC |
| 373 | DUX4_gRNA | TCTGGTTTCAGAATCGAAGGGCCA |
| 374 | DUX4_gRNA | TCTGAAACCAAATCTGGACCCTGG |
| 375 | DUX4_gRNA | TCTGAAACCAGATCTGAATCCTGG |
| 376 | DUX4_gRNA | TCTGTCTCTCCCTCCGTTCTCCC |
| 377 | DUX4_gRNA | TCTGGGCTCCACGCATCGGCAGC |
| 378 | DUX4_gRNA | TCTGGTTTCAGAATTGAAGGGCCA |
| 379 | DUX4_gRNA | TCTGTTCTATTACACACACAACA |
| 380 | DUX4_gRNA | TCTAGGCAAACCTGGATTAGAGTT |
| 381 | DUX4_gRNA | TCTAAACCTTGTATGGGCTTTGCC |
| 382 | DUX4_gRNA | TCTACGGCAGCTTTGACATATGTC |
| 383 | DUX4_gRNA | TCTAATCCAGGTTTGCCTAGACAG |
| 384 | DUX4_gRNA | TCTGGCTGAATGTCTCCCCCACC |
| 385 | DUX4_gRNA | TCTACACTCTGTCTACGGCAGCTT |
| 386 | DUX4_gRNA | TCTGTCTACGGCAGCTTTGACATA |
| 387 | DUX4_gRNA | TCTAGTCTTTTCTATGTGGGTTT |
| 388 | DUX4_gRNA | TCTACTATGGAGTTCTGAAACACA |
| 389 | DUX4_gRNA | TCTGTCTTTGCCCGCTTCTCGGCT |
| 390 | DUX4_gRNA | TCTAGGTTTCACTACTATGGAGT |
| 391 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTTTGGCCTACAGGGGGC |
| 392 | DUX4_gRNA | TCTGCAGCCTGTAGCTCCTGGGGA |
| 393 | DUX4_gRNA | TCTATCACAGTGCCCCCATAGGCA |
| 394 | DUX4_gRNA | TCTGGCTTCATTTTGGGGACGTG |
| 395 | DUX4_gRNA | TCTATAGGATCCACAGGGAGGGGG |
| 396 | DUX4_gRNA | TCTGACACATCTCTGAAGTATCA |
| 397 | DUX4_gRNA | TCTATGTTCTTCACTGCCTCATAC |
| 398 | DUX4_gRNA | TCTGGGCGATCAGTGCAGAGAGAA |
| 399 | DUX4_gRNA | TCTGTCTGTCTTTGCCCGCTTCT |
| 400 | DUX4_gRNA | TCTGTCTGGCTTCATTTTGGGGGA |
| 401 | DUX4_gRNA | TCTGTGGACAGTTTCTCCTCATGG |
| 402 | DUX4_gRNA | TCTGTTGATAAACTAGACCAAAA |
| 403 | DUX4_gRNA | TCTAAACACTACTCTGCTATTAGT |
| 404 | DUX4_gRNA | TCTGTGTTTCACTATCCCATATGA |
| 405 | DUX4_gRNA | TCTACGGGGGCATTGTGACATATC |
| 406 | DUX4_gRNA | TCTGTGCAGAGATATGTCACAAAG |
| 407 | DUX4_gRNA | TCTGAAATTGTCATGCAGTACTC |
| 408 | DUX4_gRNA | TCTAAGCCTCGTGGTTAGTGGGGA |
| 409 | DUX4_gRNA | TCTGTAGATCTCTGCCATTCATAA |
| 410 | DUX4_gRNA | TCTGCCTAAGCTTGAGTGAGTCAC |

[0300]

| | | |
|-----|-----------|---------------------------|
| 411 | DUX4_gRNA | TCTGCCTCTCAAGAAATTCCTGCC |
| 412 | DUX4_gRNA | TCTGATGTAAGAAATGATGCTCAC |
| 413 | DUX4_gRNA | TCTGCCATTTCATAAGTATTTGGAG |
| 414 | DUX4_gRNA | TCTGAACCTAGACAGGAGTTACAT |
| 415 | DUX4_gRNA | TCTAGTTTTATCAACAGAGCTAGT |
| 416 | DUX4_gRNA | TCTGTTTAGAATGCTACCTATTGC |
| 417 | DUX4_gRNA | TCTATCCAGAAGGCAATAGGTAGC |
| 418 | DUX4_gRNA | TCTATATCCAGCCTCATCTATTTTC |
| 419 | DUX4_gRNA | TCTACTACATACCAGGTTCCAGAA |
| 420 | DUX4_gRNA | TCTGGAACCTGGTATGTAGTAGAA |
| 421 | DUX4_gRNA | TCTGGATAGAATCACAACTCTTTA |
| 422 | DUX4_gRNA | TCTAAACAGAGATCCTTTTTTTTTT |
| 423 | DUX4_gRNA | TCTGCATCTCCCAGAGCCAGCCTG |
| 424 | DUX4_gRNA | TCTGGGAAGCTGACAATCCATCAG |
| 425 | DUX4_gRNA | TCTGGGAGATGCAGAAGGAGCACG |
| 426 | DUX4_gRNA | TCTACAGATTTGATTCTGATGTAA |
| 427 | DUX4_gRNA | TCTGTGTCATATATCACAAATCT |
| 428 | DUX4_gRNA | TCTGAAACACATCTGCACTGATCA |
| 429 | DUX4_gRNA | TCTACAGGGGATATTGTGACATAT |
| 430 | DUX4_gRNA | TCTATTTCTGCTCCTCCTCTTAT |
| 431 | DUX4_gRNA | TCTGCTCCTCCTCCTATTTTCCT |
| 432 | DUX4_gRNA | TCTAGGTGATGTAACCTTTGTCCA |
| 433 | DUX4_gRNA | TCTGGTTGATCAGTAAAGAGATAT |
| 434 | DUX4_gRNA | TCTGCTATTAGTAGCTGTGTGACC |
| 435 | DUX4_gRNA | TCTGATCACCCAGGTGATGTAAC |
| 436 | DUX4_gRNA | TCTAGGTGATGTAACCTTTGTCTA |
| 437 | DUX4_gRNA | TCTGTAGGCAGAGCCTAGACAAGA |
| 438 | DUX4_gRNA | TCTACTGGGAGCATTGTGACATAT |
| 439 | DUX4_gRNA | TCTAGCCAGGAAGCGGGCAAAGAC |
| 440 | DUX4_gRNA | TCTGGGTGATCTTTGCAGAGATAT |
| 441 | DUX4_gRNA | TCTAGACAAGAGTTACATCTCCTG |
| 442 | DUX4_gRNA | TCTGACATATCTTGCCTGATCA |
| 443 | DUX4_gRNA | TCTGGGTCATCAGTGCAGACATAT |
| 444 | DUX4_gRNA | TCTATACTCTGCCTGCAGGGACAT |
| 445 | DUX4_gRNA | TCTGCAATGATCACTCATGTGATG |
| 446 | DUX4_gRNA | TCTACCCTCTGCCTACAGGGGGCG |
| 447 | DUX4_gRNA | TCTGTGCCCTTGTCTTCCGTGAA |
| 448 | DUX4_gRNA | TCTGCACTCATCACAAAAAGATG |
| 449 | DUX4_gRNA | TCTAAGCTCTGCCTACAGGGGCGT |
| 450 | DUX4_gRNA | TCTGCTTACTTGGGGGATTGTGAC |
| 451 | DUX4_gRNA | TCTGCCTGCAGGGACATTTGAGA |
| 452 | DUX4_gRNA | TCTGTCTACTGGGAGCATTGTGAC |
| 453 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCTTACTTGGGGGA |
| 454 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCCGCCACAGGGGGCA |
| 455 | DUX4_gRNA | TCTACACGAGAATTTTAACATATC |
| 456 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGTCTACTGGGAGCA |
| 457 | DUX4_gRNA | TCTGTCTACACGAGAATTTTAACA |

[0301]

| | | |
|-----|-----------|---------------------------|
| 458 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACTGGGGCGTAGTGACA |
| 459 | DUX4_gRNA | TCTAGACTCGACCTACAGGGGCTT |
| 460 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACGGGGGTAT |
| 461 | DUX4_gRNA | TCTAGGCCCTGCCTACAAGGGAAT |
| 462 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGACATTGTGAC |
| 463 | DUX4_gRNA | TCTAGGTTCAGACTACAGGAGCGT |
| 464 | DUX4_gRNA | TCTGTACGGATCACCTGGGTTATG |
| 465 | DUX4_gRNA | TCTGCCTATGGGGGCATTGCAACA |
| 466 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGAGGGCATTGTGGC |
| 467 | DUX4_gRNA | TCTGTACAATGCCCTGTAGGCA |
| 468 | DUX4_gRNA | TCTAGGTGATGTAACCTTGCTTA |
| 469 | DUX4_gRNA | TCTGCTTACGGGGGTATTGTGACA |
| 470 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCAGCCAGGGAGG |
| 471 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACATGGGCATTCTGACA |
| 472 | DUX4_gRNA | TCTGTGTATGGGGGCTTCTGACA |
| 473 | DUX4_gRNA | TCTGCCTATGGGGGCACTGTGATA |
| 474 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACTGGAGCATTGTGACA |
| 475 | DUX4_gRNA | TCTAAGCTGTGCCTAAAGGGGAAT |
| 476 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGTCTACACGAGAAT |
| 477 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACATAGGCATTGTGACA |
| 478 | DUX4_gRNA | TCTGTCTACGGGGGCATTGTGACA |
| 479 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACTGGGGGCATTGTTAC |
| 480 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACTGGCGGCA |
| 481 | DUX4_gRNA | TCTAAGACAAGCGTCCATCACCTG |
| 482 | DUX4_gRNA | TCTGCAAAGATCACCCAGATGATG |
| 483 | DUX4_gRNA | TCTGCCCTTATGACCCAGGTGATG |
| 484 | DUX4_gRNA | TCTATGCACTGATCTCTGAGGTGA |
| 485 | DUX4_gRNA | TCTGAGGTGATTCAACTCTTGCT |
| 486 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACTGGCGGCATTGTCAC |
| 487 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTATGGGGGCAC |
| 488 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATAACCTAGGTGATG |
| 489 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACATAGGCAT |
| 490 | DUX4_gRNA | TCTAGGCAGAGTATAGAGAAGAGT |
| 491 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACAGAGGGCA |
| 492 | DUX4_gRNA | TCTGAACATAATCATCCAGGAGATG |
| 493 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGAGGGCGTTGTGAC |
| 494 | DUX4_gRNA | TCTAGGCCCCACCTACAGGGGGTA |
| 495 | DUX4_gRNA | TCTACAGGGGGCTTTGTGATATAT |
| 496 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGGCGTTGTGAA |
| 497 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGAGGCATTGTGAC |
| 498 | DUX4_gRNA | TCTATATCTGCCTACTGGCGGCAT |
| 490 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCTGAGGAGG |
| 491 | DUX4_gRNA | TCTGCCTAAGGGGGCATTGTGACG |
| 492 | DUX4_gRNA | TCTAAGCTCTGCCTACAGGAGCTT |
| 493 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACACGGGAAT |
| 494 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGCATTGTGACG |
| 495 | DUX4_gRNA | TCTGCCTATGGGGGCATTGCGACA |

[0302]

| | | |
|-----|-----------|--------------------------|
| 496 | DUX4_gRNA | TCTACGCTCTGCCTATGGGGGCAT |
| 497 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACGGGGCATAGTGACAT |
| 498 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGTGTATGGGGGCTT |
| 499 | DUX4_gRNA | TCTGCCTATGGGGGCTTTGTGACA |
| 500 | DUX4_gRNA | TCTGTGTATGGGGGCTTTGTGACA |
| 501 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCAAAAGGGGGCA |
| 502 | DUX4_gRNA | TCTGCTTACAGGGTGCTTTGTGAC |
| 503 | DUX4_gRNA | TCTACGCTCTGCCTACAGGAGGCT |
| 504 | DUX4_gRNA | TCTAGTCTCTGCCTACAGAGGGCG |
| 505 | DUX4_gRNA | TCTGGCTACACAGCATTGTGACAT |
| 506 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGGCTACACAGCATT |
| 507 | DUX4_gRNA | TCTGCCTATAGGGGGCCTTGTGAC |
| 508 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACTGGAGCAT |
| 509 | DUX4_gRNA | TCTGCCTAGAGGGGGATTTGTGAC |
| 510 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGCATTGTGATA |
| 511 | DUX4_gRNA | TCTGTAGGCAGAGACTAGAAAAGA |
| 512 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGCATTGCGATG |
| 513 | DUX4_gRNA | TCTGCCTGCAGGGGCATTGTGAAA |
| 514 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACATGGGCATTGTGACA |
| 515 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGGTATTGTGAA |
| 516 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTATGGGGGCTT |
| 517 | DUX4_gRNA | TCTGCCAAAAGGGGGCATTGTGAC |
| 518 | DUX4_gRNA | TCTACAGGGATTTTTGTGACATAT |
| 519 | DUX4_gRNA | TCTATACTCTGCCTAGAGGGGGAT |
| 520 | DUX4_gRNA | TCTATGGGGGCATTGTGTCAAATA |
| 521 | DUX4_gRNA | TCTGAACTGATCAACAAAGTGATG |
| 522 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACAGGGGGCA |
| 523 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACTGGAGACATTGTGAC |
| 524 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACTGGCGCATTGTGGC |
| 525 | DUX4_gRNA | TCTGCTTACAGGGGGCATTGTGAC |
| 526 | DUX4_gRNA | TCTGCCTATAGGGGCATTGTGACA |
| 527 | DUX4_gRNA | TCTAGGATCTGCCTAAAGGGACTT |
| 528 | DUX4_gRNA | TCTGTCTACAGGGATTTTTGTGAC |
| 529 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACTGGGGGCA |
| 530 | DUX4_gRNA | TCTGCACAGATCATCTAGGTGATG |
| 531 | DUX4_gRNA | TCTACAGGGGGCTTTGTGACATAT |
| 532 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGTCTACGGGGGCAT |
| 533 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGTCTACAGGGATTT |
| 534 | DUX4_gRNA | TCTGTGCAGAGCTATGTCAAACG |
| 535 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATGACCCAGATGATG |
| 536 | DUX4_gRNA | TCTGCTTACAGGGGGTATTGTGAC |
| 537 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACACGGGAATTCTCACA |
| 538 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGCGTTTTGACA |
| 539 | DUX4_gRNA | TCTGCACTAATCATCCAGGTGATG |
| 540 | DUX4_gRNA | TCTATGCTCTGCCTACAGGGGGCA |
| 541 | DUX4_gRNA | TCTAGGCACTGCCTACAGGGGACA |
| 542 | DUX4_gRNA | TCTGTGCTCTGCCTACAGGGGACA |

[0303]

| | | |
|-----|-----------|---------------------------|
| 543 | DUX4_gRNA | TCTGTCTATGGGGGCATTGTGTCA |
| 544 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGTTAACCGAGGTGATG |
| 545 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGGCATTGTGAA |
| 546 | DUX4_gRNA | TCTGCAGTGATCACGCAGGTGATG |
| 547 | DUX4_gRNA | TCTGCCTAAAGGGACTTTGTGACA |
| 548 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGAGGCTTTATGAC |
| 549 | DUX4_gRNA | TCTGCCTATGGGGGCATAGTGACA |
| 550 | DUX4_gRNA | TCTGTAGGCAAAGCCATAACAAGG |
| 551 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCTAGGTCATA |
| 552 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGGCCTTGTGACA |
| 553 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACTGGAGACA |
| 554 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGGCATTGTGAC |
| 555 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCCCCAAGGTGATG |
| 556 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCAACTAGGTGATG |
| 557 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCTTACAGGGGGTA |
| 558 | DUX4_gRNA | TCTGCTTAAAGGGGCCTTGTGACA |
| 559 | DUX4_gRNA | TCTGAACTGATCAACCAAGTGATG |
| 560 | DUX4_gRNA | TCTGCCTAAAGGGGCATTGTGACA |
| 561 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACTGGGGACATTGTGAC |
| 562 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGCGTTTTTACA |
| 563 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCCCGAGGTGATCC |
| 564 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGTGGCATTGTGACA |
| 565 | DUX4_gRNA | TCTGCAATGATCACCCAGGTGATG |
| 566 | DUX4_gRNA | TCTGCCCTGATCACCCAGGTGATG |
| 567 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGCATTGCAATG |
| 568 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTGTGCCACAGGGGGAT |
| 569 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACAGGGGCTT |
| 570 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCTTAAAGGGGCTT |
| 571 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACTCAGGTGATG |
| 572 | DUX4_gRNA | TCTGCCTATGGGGGCATTGTGACA |
| 573 | DUX4_gRNA | TCTAAGCTCTGCCTAAAGGGGCAT |
| 574 | DUX4_gRNA | TCTGTCACAATGCCCTTTAGGCA |
| 575 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTAAGGGGGCAT |
| 576 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATAACCCAGGTGATG |
| 577 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCATCTAGGTGATG |
| 578 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGAATTGTGAGA |
| 579 | DUX4_gRNA | TCTAAGCTCTGCCTACAGGGGCAT |
| 580 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGTGCTTTGTGAC |
| 581 | DUX4_gRNA | TCTAGTCTAAGCTCTGCCTAAAGG |
| 582 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCGAAGTTATG |
| 583 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCTCCAGGTGCTG |
| 584 | DUX4_gRNA | TCTGGGATTTGTCTACAGGGGGCT |
| 585 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGCTTTGTGACA |
| 586 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGAGCTTTGTGACA |
| 587 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAGGAGACG |
| 588 | DUX4_gRNA | TCTGCCTACAGGGGCATTGTGACA |
| 589 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACAGGGGGCT |

[0304]

| | | |
|-----|-----------|-----------------------------|
| 590 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCTAGGTCATG |
| 591 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACTTAGGTGATG |
| 592 | DUX4_gRNA | TCTAGGATCTGCCTACAGGGGGTA |
| 593 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCGCCCAGATGATG |
| 594 | DUX4_gRNA | TCTAGGATCTGCCTACAGGGTGCT |
| 595 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAAGTAATG |
| 596 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACAGTGGCAT |
| 597 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACAGGGGCGT |
| 598 | DUX4_gRNA | TCTGGAGTAGCTGGGACTACAGTC |
| 599 | DUX4_gRNA | TCTGGGATCTGCTTACAGGGGGCA |
| 600 | DUX4_gRNA | TCTAGGATCTGCTTACAGGGTGCT |
| 601 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCTTGGTGATG |
| 602 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAGGTGACT |
| 602 | DUX4_gRNA | TCTGGGCTCTGCCTACAGGGGCAT |
| 604 | DUX4_gRNA | TCTAGGCTCTGCCTACAGGGGCAT |
| 605 | DUX4_gRNA | TCTGTTGCCCGGGCTGGAATGCAG |
| 606 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCTAGGTGATG |
| 607 | DUX4_gRNA | TCTGTAAGTATGATCACCCAGGTGATG |
| 608 | DUX4_gRNA | TCTGGGCTTTGTCTACAGGGGGCT |
| 609 | DUX4_gRNA | TCTACACTGATCACCTAAGTGATG |
| 610 | DUX4_gRNA | TCTACACTGATCACACAGGTGATG |
| 611 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCTAAGTGATG |
| 612 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAGGTGAAG |
| 613 | DUX4_gRNA | TCTGCACAGATCACCCAGGTGATG |
| 614 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAGGTGATG |
| 615 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAGGTGGTG |
| 617 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAGGGGATG |
| 618 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAGGTAATG |
| 619 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAGGTGATA |
| 620 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCAACCAGGTGATG |
| 621 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAGGTCATG |
| 622 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAGGCGATG |
| 623 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAAGTGATG |
| 624 | DUX4_gRNA | TCTACTAAAAATACAAAAAATTA |
| 625 | DUX4_gRNA | TCTGCACTGATCACCCAGGTGATG |
| 626 | DUX4_gRNA | TCTACACTGATCACCCAGGTGATG |
| 627 | DUX4_gRNA | TCTACCTCAGATGAGATATTGCTT |
| 628 | DUX4_gRNA | TCTGTCTCGGAATGAAATGAATTC |
| 629 | DUX4_gRNA | TCTATAGTTCAAACAAAGATGAGG |
| 630 | DUX4_gRNA | TCTGAGGTAGAATGTTTCTAGTGG |
| 631 | DUX4_gRNA | TCTGCTGTATCTATAGTTCAAACA |
| 632 | DUX4_gRNA | TCTATACTGCTTGACCCAAGCTTT |
| 633 | DUX4_gRNA | TCTAGCGTGATTTATTTTGCAGC |
| 634 | DUX4_gRNA | TCTGAAACGTGGTATCTGGAGAGG |
| 635 | DUX4_gRNA | TCTACCTTTTGCTATCAAAGCTT |
| 636 | DUX4_gRNA | TCTAGGAACAGTAAGAGGACCTTG |
| 637 | DUX4_gRNA | TCTGGAGAATTCATTTCAATCCGA |

[0305]

| | | |
|-----|-----------|---------------------------|
| 638 | DUX4_gRNA | TCTGCTTATTACCCACTCTGTAAT |
| 639 | DUX4_gRNA | TCTGAGGGAGAAAACTAATCTTT |
| 640 | DUX4_gRNA | TCTGTACTGTGTGCAAGGTGAAG |
| 641 | DUX4_gRNA | TCTAGTGGTTGTGTTCTGAGGGAG |
| 642 | DUX4_gRNA | TCTGCTTTTGGTTCATGAAATTTT |
| 643 | DUX4_gRNA | TCTGGAGAGGTGAGATGGACAAAG |
| 644 | DUX4_gRNA | TCTGGGTCACAGCTATATTAGAGC |
| 645 | DUX4_gRNA | TCTGTTTCTAGCGTGTATTTATTT |
| 646 | DUX4_gRNA | TCTAATATAGCTGTGACCCAGATG |
| 647 | DUX4_gRNA | TCTGCTTCACTTCAATAACAGCCT |
| 648 | DUX4_gRNA | TCTGGAACAGCTATGTACTTTCTT |
| 649 | DUX4_gRNA | TCTGAAATCCTTTTATGCCTGGCC |
| 650 | DUX4_gRNA | TCTGTAATGTGGAAACAAATTATT |
| 651 | DUX4_gRNA | TCTGACACAGTCTGCGTTTGTAAAG |
| 652 | DUX4_gRNA | TCTGGGATTTCTTGCTGGAAAAA |
| 653 | DUX4_gRNA | TCTAAGAAGTCTGGGATTTCTCTG |
| 654 | DUX4_gRNA | TCTACCATTTAAACAAGAACTCT |
| 655 | DUX4_gRNA | TCTGCTGGAAAAATAAGTTTGTTG |
| 656 | DUX4_gRNA | TCTGTGAAATCCTCATGTTTTCTT |
| 657 | DUX4_gRNA | TCTAAAGTATATTACTCTGCTTTT |
| 658 | DUX4_gRNA | TCTAACCTTCAAAAACCAAACCTG |
| 659 | DUX4_gRNA | TCTGGCTACTTTCATGGTATAATG |
| 660 | DUX4_gRNA | TCTATCTGTTTACTATCTGTCTTT |
| 661 | DUX4_gRNA | TCTGTTTACTATCTGTCTTTTCTA |
| 662 | DUX4_gRNA | TCTAAAACAAGGTGTGGCAAACATA |
| 663 | DUX4_gRNA | TCTGTTTTCTGGAACAGCTATGTA |
| 664 | DUX4_gRNA | TCTGTCTTTTCTACCTTTTGTCTAT |
| 665 | DUX4_gRNA | TCTAGTTTTGCCTCATCTTTGTTT |
| 666 | DUX4_gRNA | TCTGCGTTTGTAAAGTAAAGTTGTA |
| 667 | DUX4_gRNA | TCTGCAAAGGGCTAAATGTTAAAT |
| 668 | DUX4_gRNA | TCTATCTATCTGTTTACTATCTGT |
| 669 | DUX4_gRNA | TCTGTGGGGTTTTTGTGTTGTTG |
| 670 | DUX4_gRNA | TCTACCTCCTATCATCTATCTATC |
| 671 | DUX4_gRNA | TCTATCTACCTCCTATCATCTATC |
| 672 | DUX4_gRNA | TCTATCTATCTACCTCCTATCATC |
| 673 | DUX4_gRNA | TCTGTGGCCAGGCGTGGTGGCTCA |
| 674 | DUX4_gRNA | TCTGTTTTTGTGTTTGTGTTGTT |
| 675 | DUX4_gRNA | TCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAT |
| 676 | DUX4_gRNA | TCGAACTCACAGGCAAAATCCTCC |
| 677 | DUX4_gRNA | TCGGTATCCCCCTTTACTGAGCCA |
| 678 | DUX4_gRNA | TCGAATGCACTTTAAGATTCTGGG |
| 679 | DUX4_gRNA | TCGGGTCTTACCCGCGCGTTCA |
| 680 | DUX4_gRNA | TCGGGTGGTTCGGGGCAGGGCCGT |
| 681 | DUX4_gRNA | TCGGGTTTTACCCGCGCGTTCA |
| 682 | DUX4_gRNA | TCGGCCTCGCGCCGCGTTGCAGGG |
| 683 | DUX4_gRNA | TCGGGTTGCCGTCGGGTCTTACC |
| 684 | DUX4_gRNA | TCGGCATGGCCAGCCTTTCGGGGG |

[0306]

| | | |
|-----|-----------|--------------------------|
| 685 | DUX4_gRNA | TCGGCAGCAGGGAGAAACCAGCCT |
| 686 | DUX4_gRNA | TCGGGTGGTTCGGGGCAGGGCGGT |
| 687 | DUX4_gRNA | TCGGCTCCGGGAGTAGCGGGACC |
| 688 | DUX4_gRNA | TCGGAAGAGGCCGCTCGCTGGAA |
| 689 | DUX4_gRNA | TCGAGGCCTGGGGCCGGCCGGCGG |
| 690 | DUX4_gRNA | TCGGGTGCCGTCGGGTTTCACC |
| 691 | DUX4_gRNA | TCGGGGGCCGGAGAGACGTGAGCA |
| 692 | DUX4_gRNA | TCGGGGGCCGGCTCTCCGGACCTC |
| 692 | DUX4_gRNA | TCGGTGGCCTCCGCACCCGGGCAA |
| 694 | DUX4_gRNA | TCGACGCCCTGGGTCCCTCCGGG |
| 695 | DUX4_gRNA | TCGGACAGCACCTCCCGCGGAA |
| 696 | DUX4_gRNA | TCGGGAGGGCCATCGCGGTGAGCC |
| 697 | DUX4_gRNA | TCGGGGCAGGGCCGTGGCCTCTCT |
| 698 | DUX4_gRNA | TCGGGTCCAAACGAGTCTCCGTC |
| 699 | DUX4_gRNA | TCGGCCCTGGCCCGGAGACGCGG |
| 700 | DUX4_gRNA | TCGGCATTCCGGAGCCAGGGTCC |
| 701 | DUX4_gRNA | TCGGAGGAGCAGGGCGGTCTGGGA |
| 702 | DUX4_gRNA | TCGGGGCAGGGCGGTGGCCTCTCT |
| 703 | DUX4_gRNA | TCGAAGGGCCAGGCACCCGGGACA |
| 704 | DUX4_gRNA | TCGATTCTGAAACCAGATCTGAAT |
| 705 | DUX4_gRNA | TCGGAAGGTGGGGGAGACATTCA |
| 706 | DUX4_gRNA | TCGAGTCTAGACAAGAGTTACATC |
| 707 | DUX4_gRNA | TCGGTTCAGGTTAAGAGTTAGGG |
| 708 | DUX4_gRNA | TCGGTGATCAGTGCAGAGATACGT |
| 709 | DUX4_gRNA | TCGACAAATCTCTGCACTGATCAC |
| 710 | DUX4_gRNA | TCGAAATCCCTGTAGGCAGTGCT |
| 711 | DUX4_gRNA | TCGGTGATCAGTGCAGATGTGTTT |
| 712 | DUX4_gRNA | TCGACCTACAGGGGCTTTGTGACA |
| 713 | DUX4_gRNA | TCGGTGATCAATGCAGCGATATGT |
| 714 | DUX4_gRNA | TCGGTTAACAGTGCAGAGATATGT |
| 715 | DUX4_gRNA | TCGGGATCAGTGCAGAGATATGTC |
| 716 | DUX4_gRNA | TCGGAATGAAATGAATTCTCCAGA |
| 717 | DUX4_gRNA | TCGGCTAGCCTCGGCATCCCAAAG |
| 718 | DUX4_gRNA | TCGGCATCCCAAAGTGCTGGGATT |

[0307]

[0308]

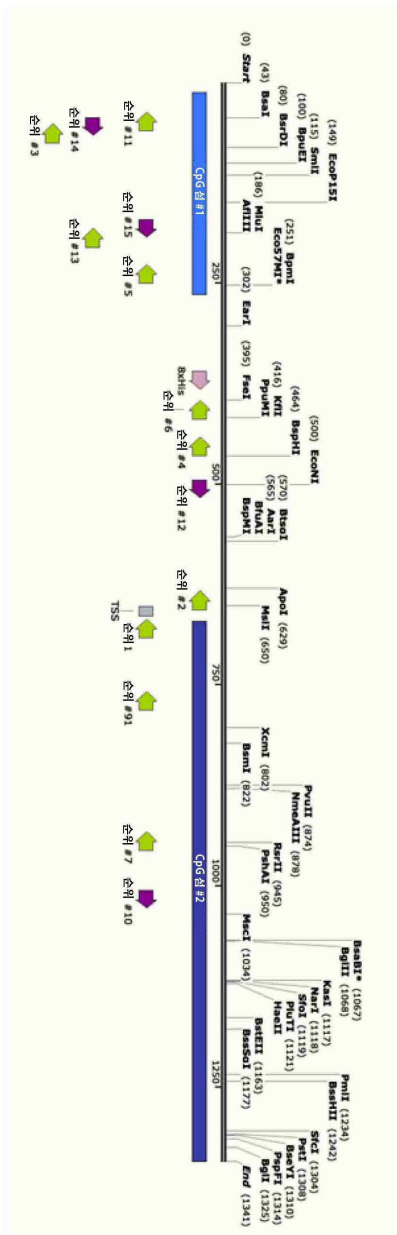
본 발명의 다양한 양태는 개별적으로, 집합적으로, 또는 서로 조합하여 이해될 수 있음을 이해해야 한다. 본원에 기술된 본 발명의 다양한 양태는 본원에 개시된 임의의 특정 응용분야에 적용될 수 있다. 본 개시내용의 조성물 섹션에서 본원에 개시된 물질의 조성물은 본원에 개시된 용도 및 생산 방법을 포함하는 방법 섹션에서 활용될 수 있으며, 그 반대도 마찬가지이다.

[0309]

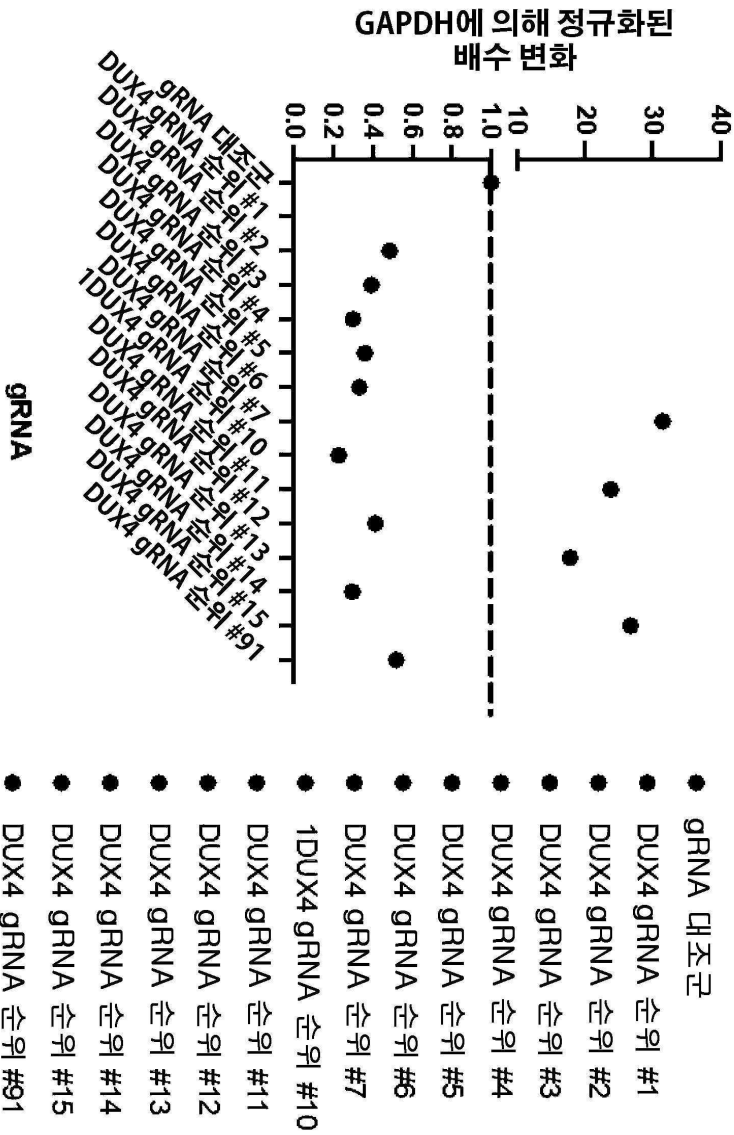
본 발명의 바람직한 실시양태가 본원에 도시되고 설명되었지만, 이러한 실시양태는 단지 예로서 제공된다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 본 발명은 명세서 내에 제공된 특정 실시예에 의해 제한되도록 의도되지 않는다. 본 발명은 전술한 명세서를 참조하여 설명되었지만, 본원의 실시양태의 설명 및 예시는 제한적인 의미로 해석되는 것을 의미하지 않는다. 본 발명을 벗어나지 않으면서 관련 기술분야의 통상의 기술자는 다양한 변형, 변화 및 대체를 할 수 있을 것이다. 또한, 본 발명의 모든 양태는 다양한 조건 및 변수에 따라 달라지는 본원에 제시된 특정 묘사, 구성 또는 상대적 비율로 제한되지 않음을 이해하여야 한다. 본원에 기술된 본 발명의 실시양태에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는데 채용될 수 있음을 이해하여야 한다. 따라서 본 발명은 그러한 대안, 수정, 변형 또는 등가물도 포함해야 한다고 생각된다. 다음의 청구범위는 본 발명의 범위를 정의하고, 이들 청구범위 및 그 등가물 범위 내의 방법 및 구조가 이에 의해 포괄되도록 의도된다.

도면

도면1

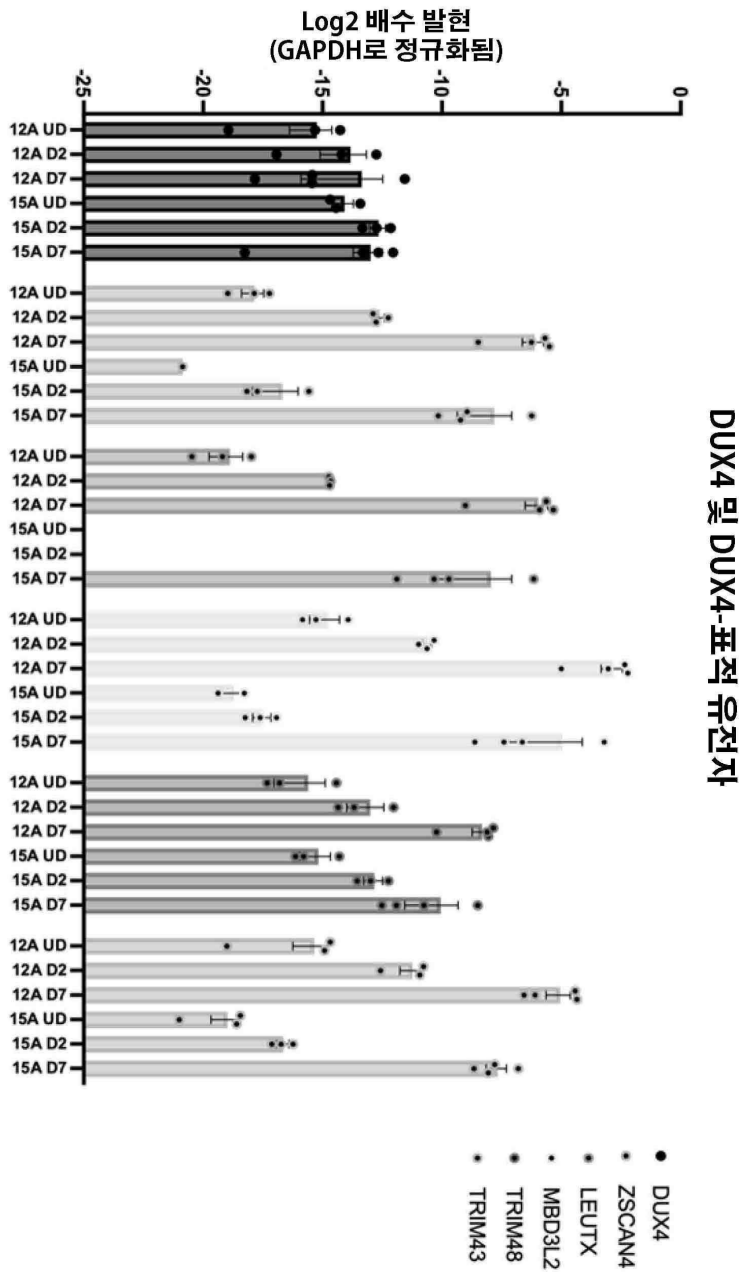


dCas9KAL1에 의한 DUX4 억제

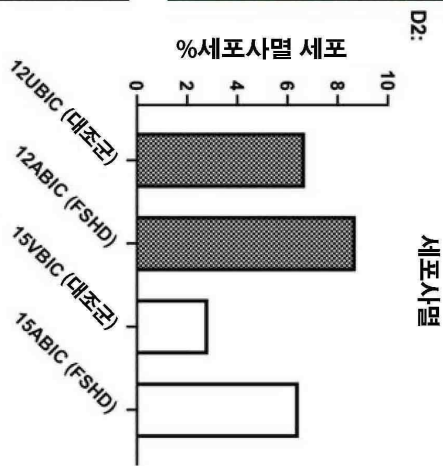
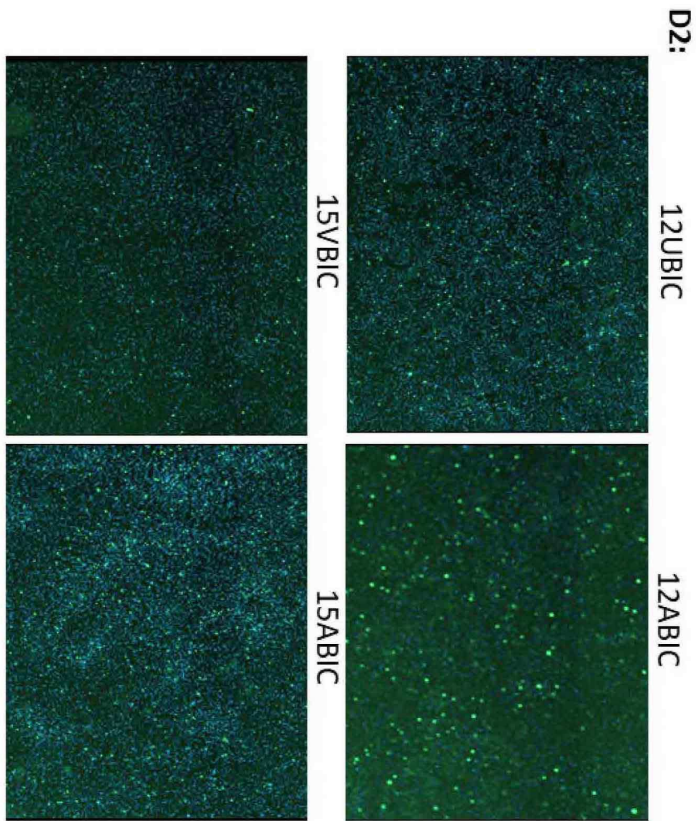


도면2

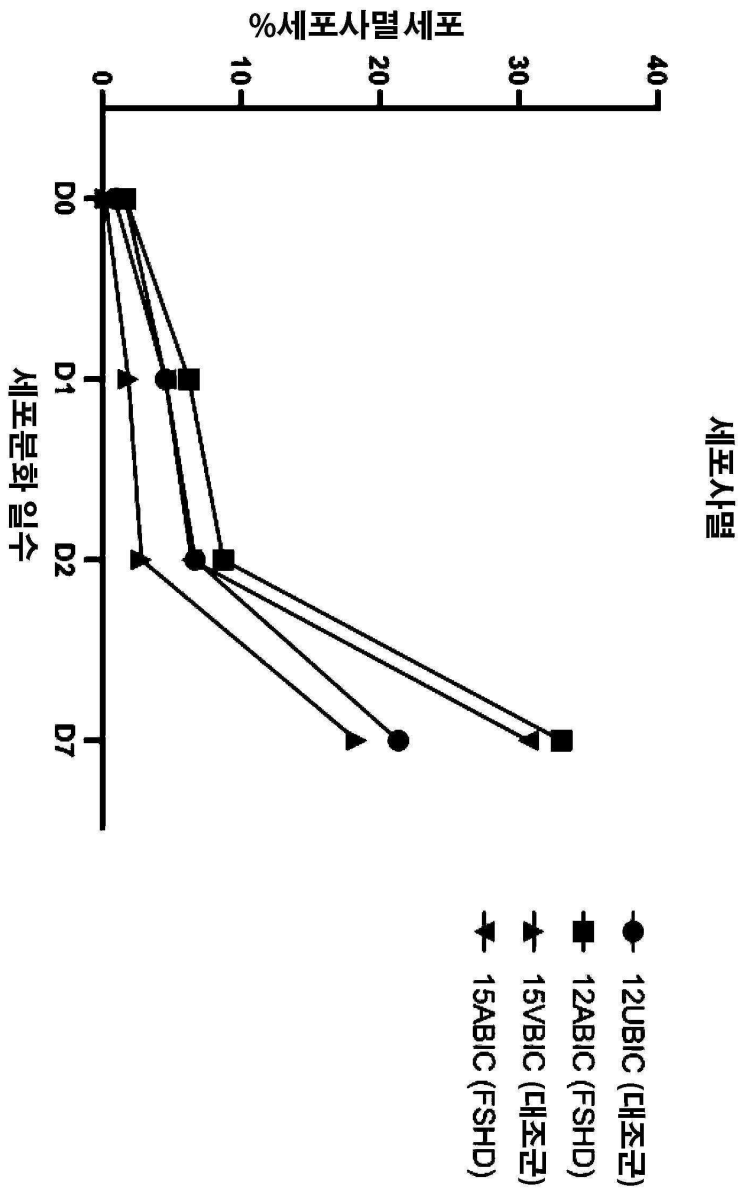
도면3a



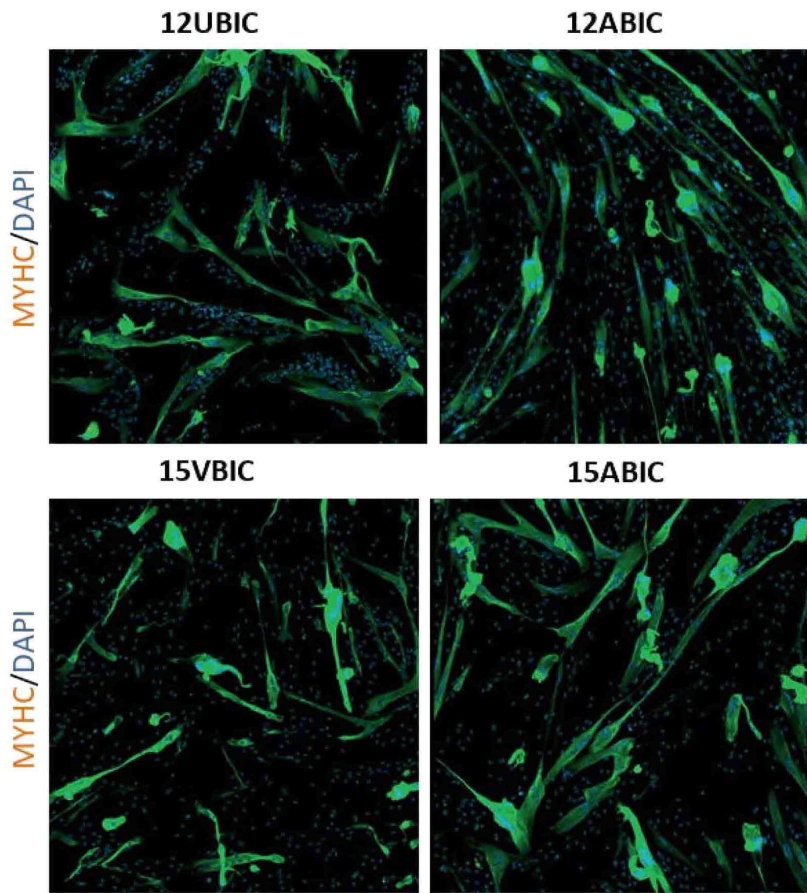
도면3b



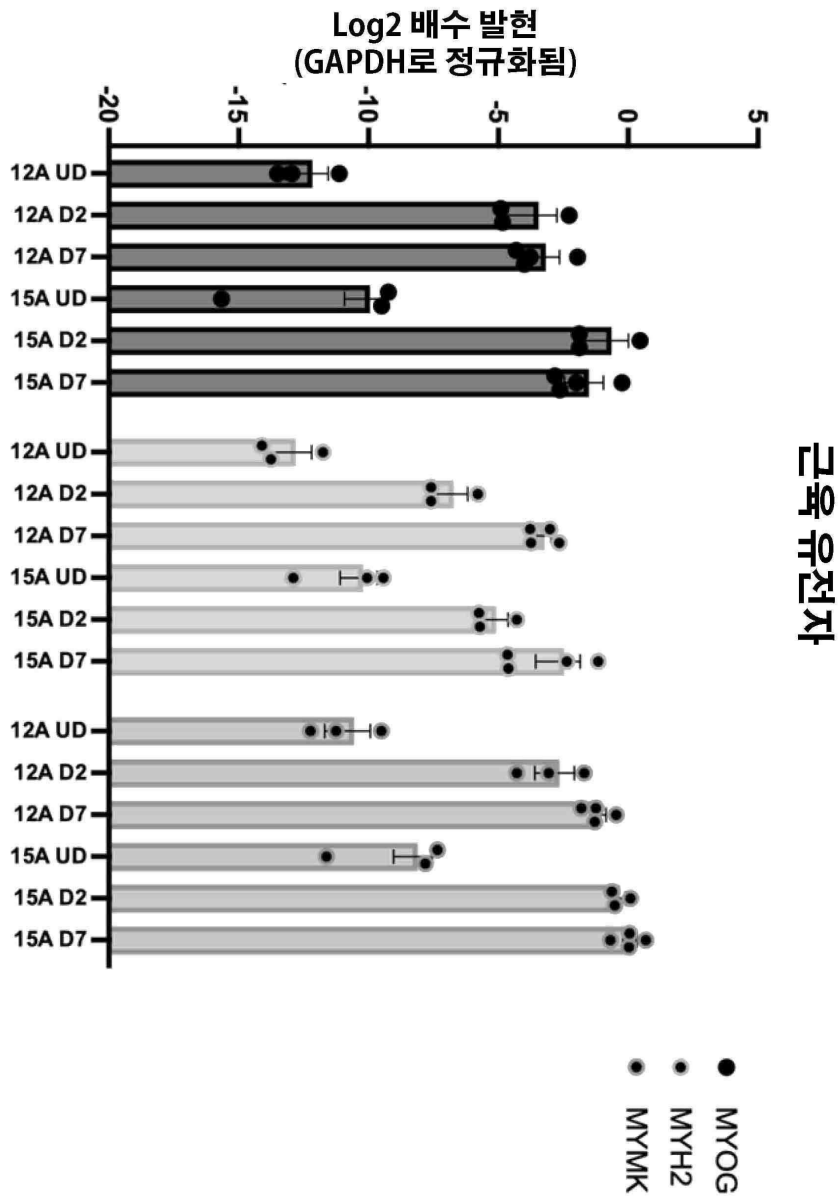
도면3c



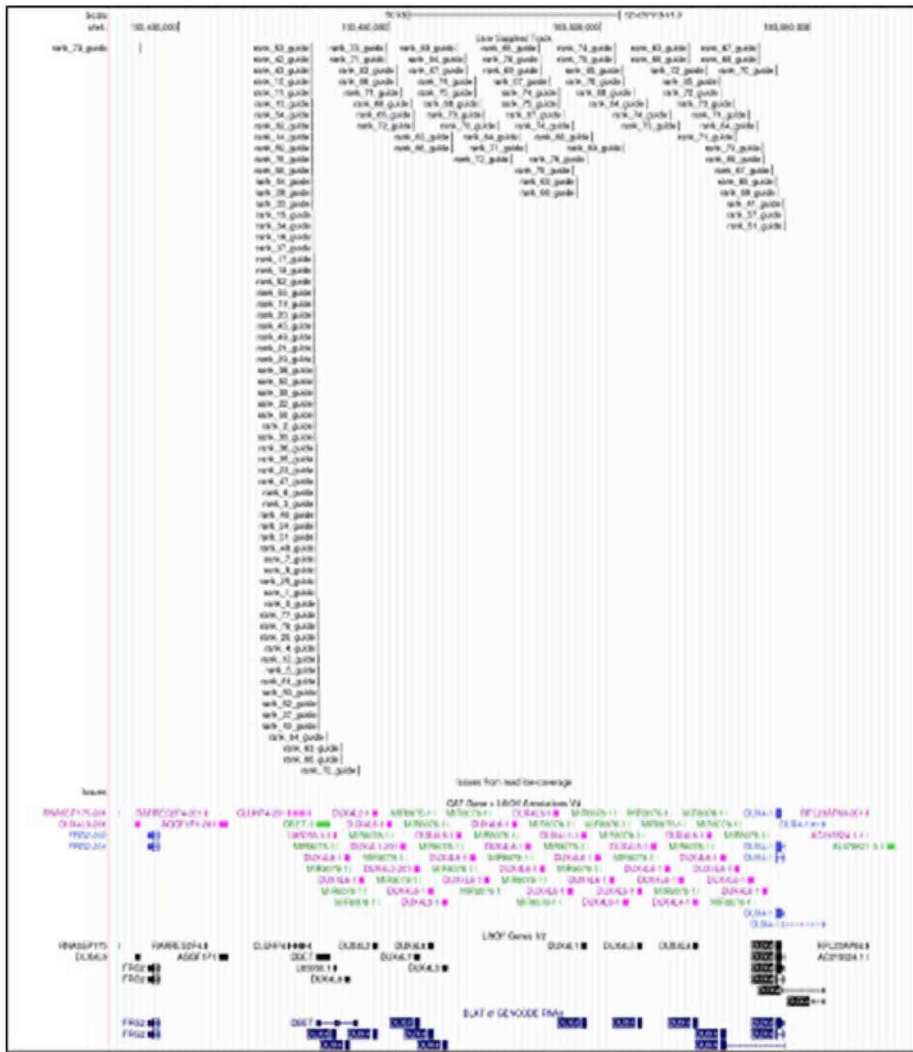
도면3d



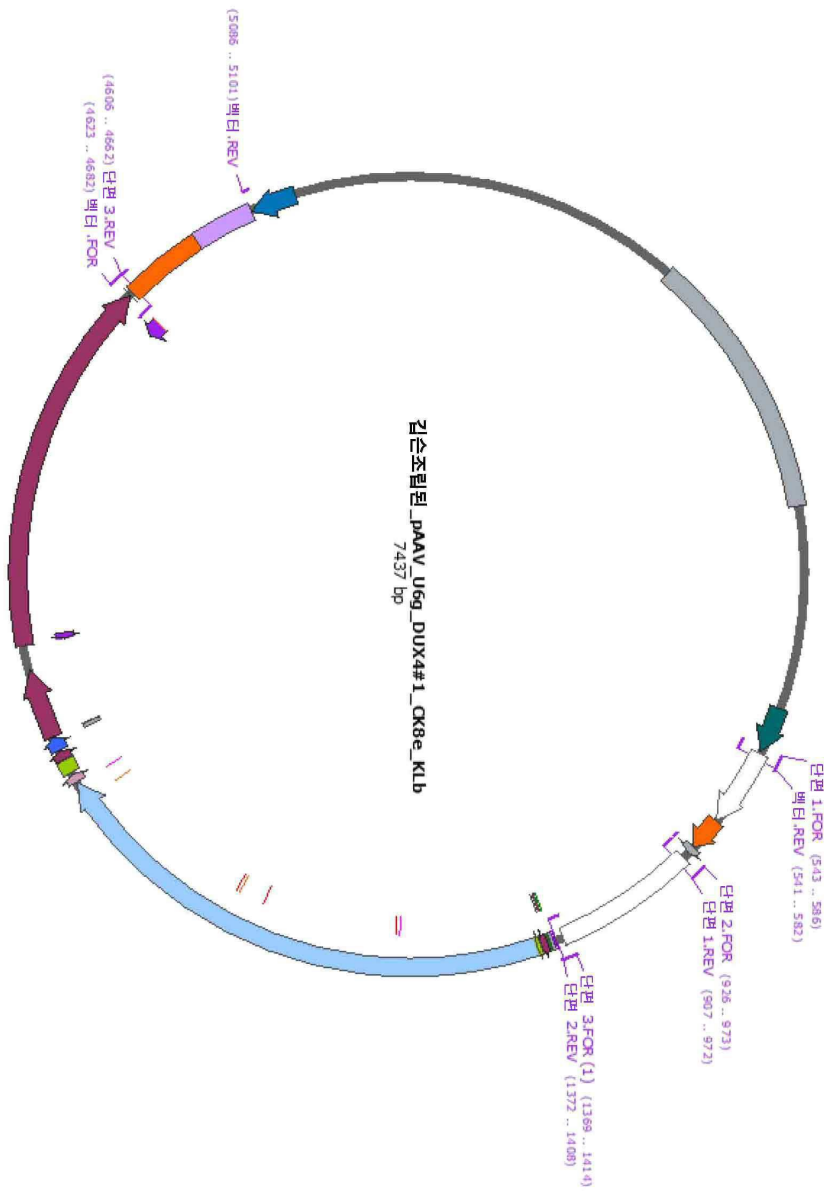
도면3e



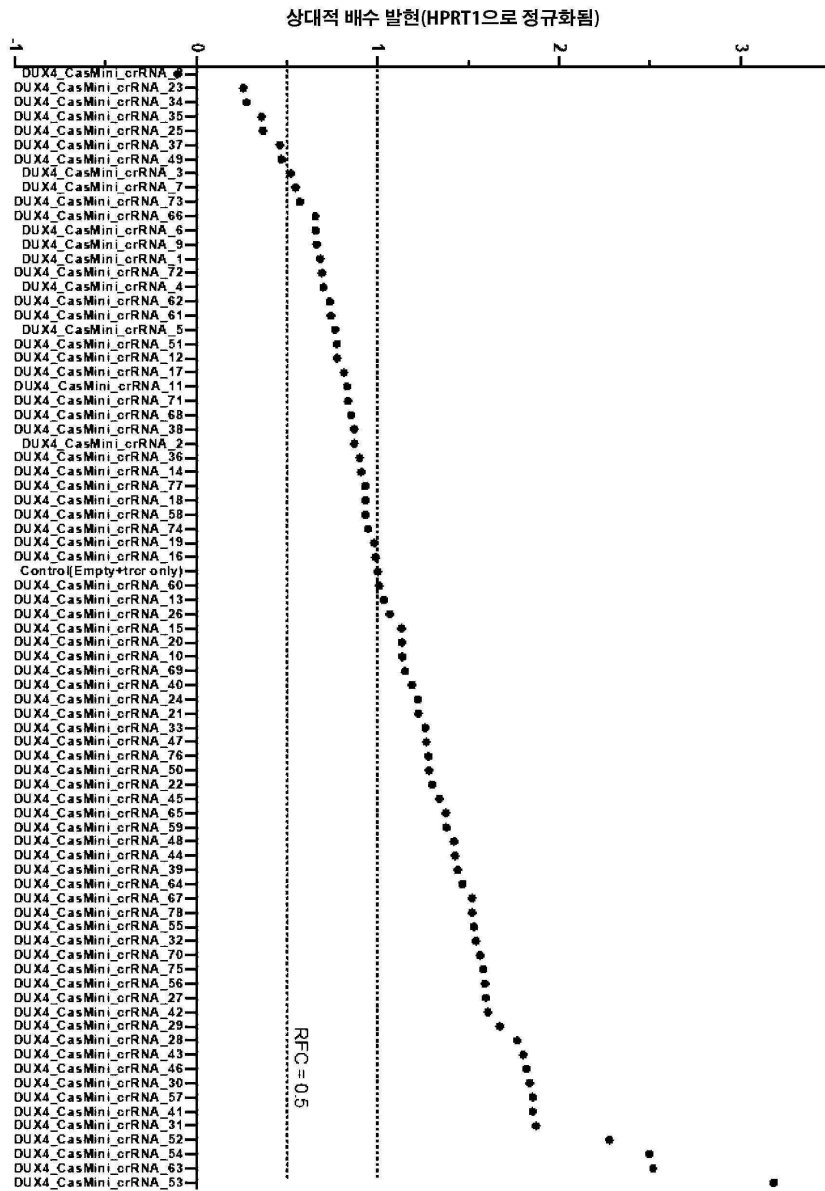
도면4



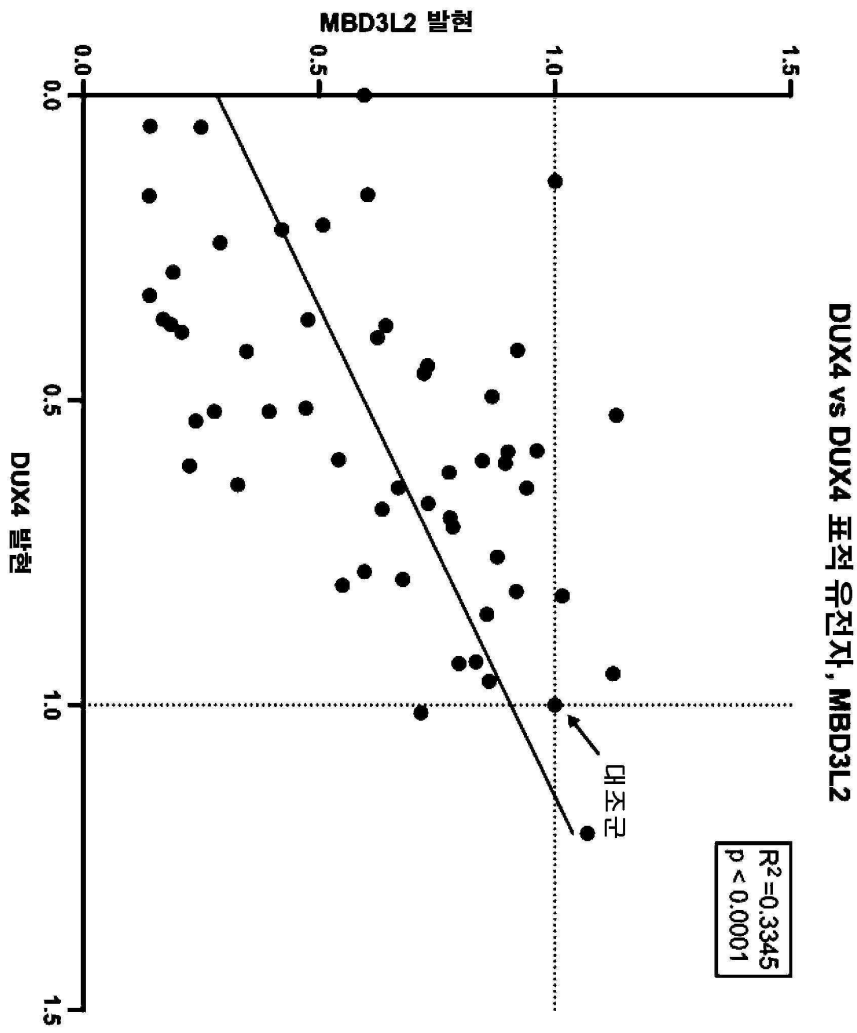
도면5



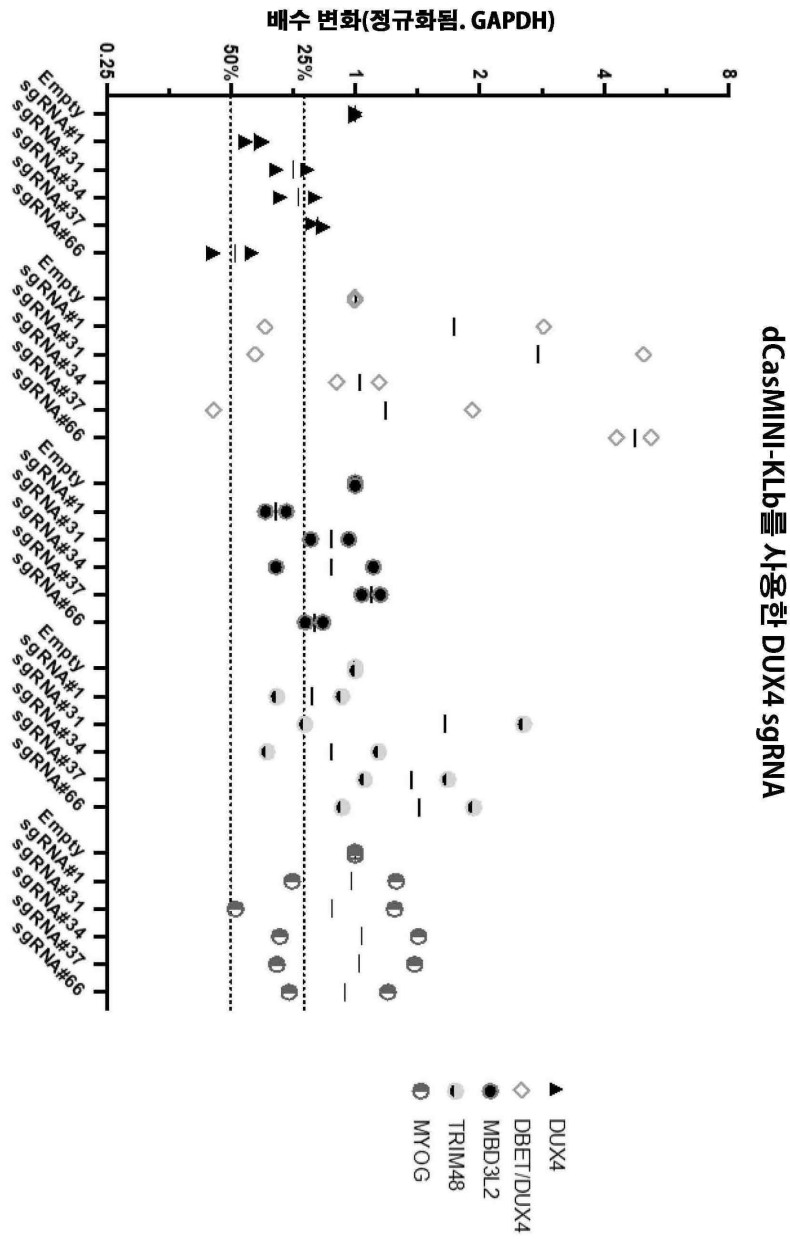
도면6a



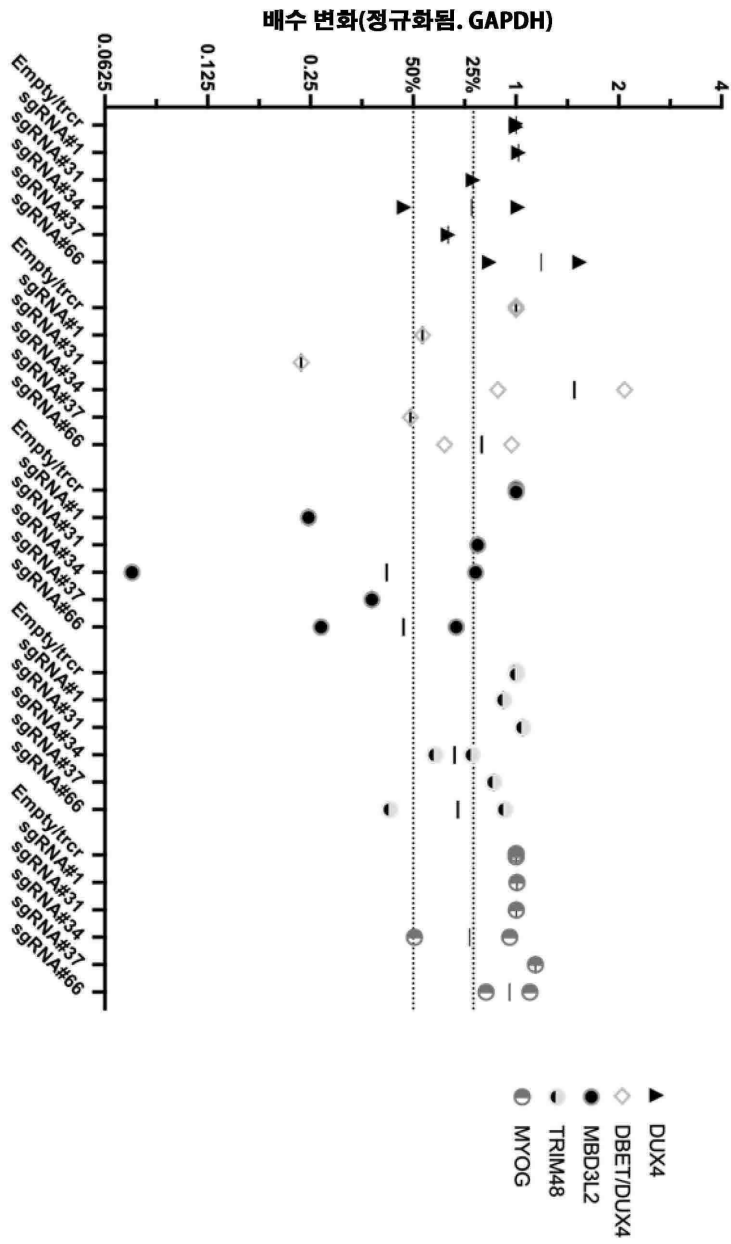
도면6b



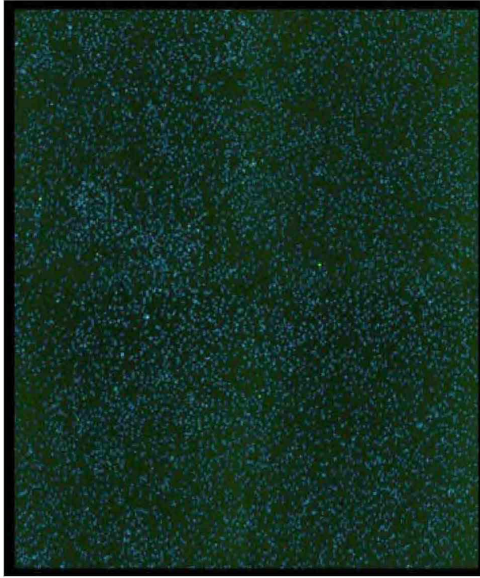
도면7a



도면7b



도면8a

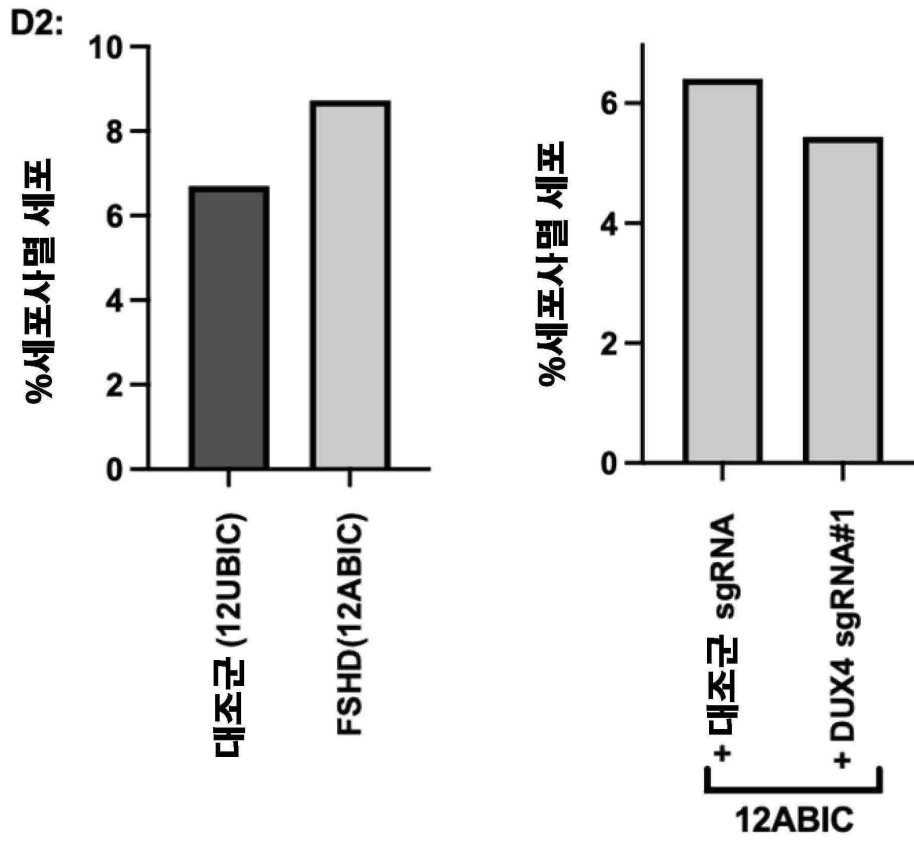


대조군

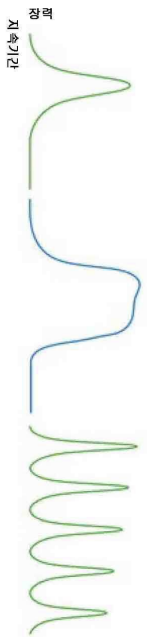


DUX4 sgRNA#1

도면8b

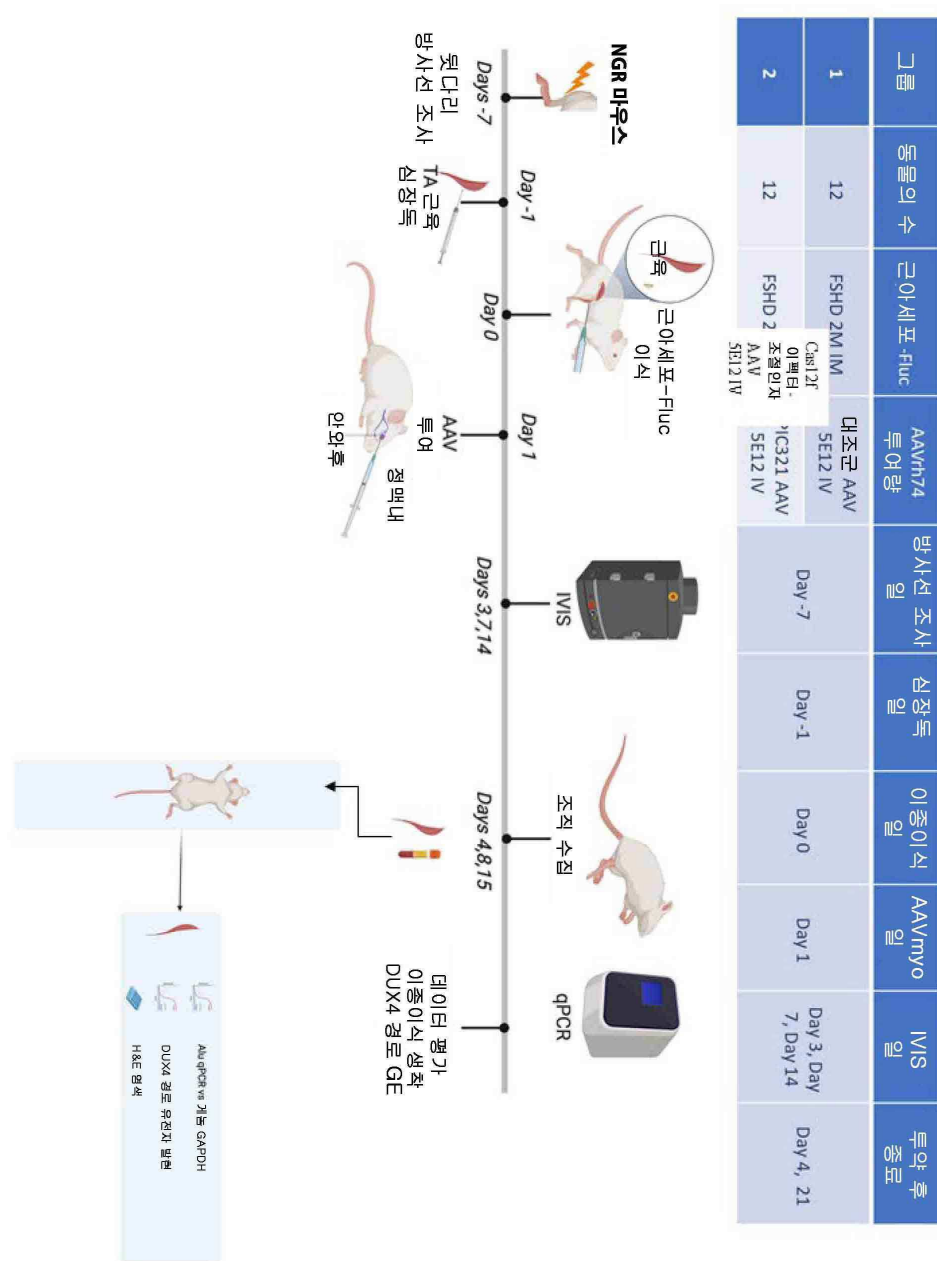


도면9



| 명칭 | 약물 | 복제물 | 분석시간표 | | | | | 종료 |
|-------------|--------------------------|-----|-------|----------------|----------------|----------------|-----|----|
| | | | 관화 | 연속 | 간속 | 피문 | 종료 | |
| FSHD 12A81C | 대조군 AAV | 12 | 0일 | 5, 12, 19, 26일 | 6, 13, 20, 27일 | 7, 14, 21, 28일 | 30일 | |
| FSHD 12A81C | Cas12f 이펙터 - 조절인자 AAV | 12 | | | | | | |

도면10



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> EPICRISPR BIOTECHNOLOGIES, INC.

<120> SYSTEMS AND METHODS FOR REGULATING ABERRANT GENE EXPRESSIONS

<130> 55176-716.601

<140> PCT/US2022/033797

<141> 2022-06-16

<150> 63/211,791

<151> 2021-06-17

<160> 726

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 1

cgcggggagg gtgctgtccg

20

<

210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 2

ccatcgcggt gagccccggc

20

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 3

gggcgtcgcc gttgccggga

20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 4

gaatggcggg gagccccct 20
 <210> 5
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 5
 cggctctccg gacctctcca 20
 <210> 6
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 6
 gaccagggc gtcgaggcct 20
 <210> 7
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 7
 tgacggcggg ccgctttcgc 20
 <210> 8
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 8
 tccaggcatc gccgcccggg 20

<210> 9
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 9
 cgggacggtc tcgcacacgc 20
 <210> 10
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 10
 cctttacaag ggcggctggc 20
 <210> 11
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 11
 ctctctgggc tcccacgct 20
 <210> 12
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 12
 gtgcgagacc gtcccggcaa 20
 <210> 13
 <211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 13

tctccctgct gccgacgcgt 20

<210> 14

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 14

gtacgggttc cgctcaaagc 20

<210> 15

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 15

Asn Asn Ser Gln Gly Arg Val Thr Phe Glu Asp Val Thr Val Asn Phe

1 5 10 15

Thr Gln Gly Glu Trp Gln Arg Leu Asn Pro Glu Gln Arg Asn Leu Tyr

20 25 30

Arg Asp Val Met Leu Glu Asn Tyr Ser Asn Leu Val Ser Val Gly Gln

35 40 45

Gly Glu Thr Thr Lys Pro Asp Val Ile Leu Arg Leu Glu Gln Gly Lys

50 55 60

Glu Pro Trp Leu Glu Glu Glu Val Leu Gly Ser Gly Arg Ala Glu

65 70 75 80

Lys Asn Gly Asp Ile

85

<210> 16

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 16

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

Gln Lys Asn Leu Tyr Arg Asp Val Met Gln Glu Thr Phe Arg Asn Leu
 35 40 45
Ala Ser Ile Gly Asn Lys Gly Glu Asp Gln Ser Ile Glu Asp Gln Tyr
 50 55 60
Lys Asn Ser Ser Arg Asn Leu Arg His Ile Ile Ser His Ser Gly Asn
65 70 75 80
Asn Pro Tyr Gly Cys
 85

<210> 17

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 17

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

Leu Thr Ser Leu Asp Val His His Gln Lys Gln His Leu Gly Glu Lys

50 55 60

His Phe Arg Ser Asn Val Gly Arg Ala Leu Phe Val Lys Thr Cys Thr

65 70 75 80

Phe His Val Ser Gly

85

<210> 18

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 18

Thr Thr Phe Lys Glu Ala Met Thr Phe Lys Asp Val Ala Val Val Phe

1 5 10 15

Thr Glu Glu Glu Leu Gly Leu Leu Asp Leu Ala Gln Arg Lys Leu Tyr

20 25 30

Arg Asp Val Met Leu Glu Asn Phe Arg Asn Leu Leu Ser Val Gly His

35 40 45

Gln Ala Phe His Arg Asp Thr Phe His Phe Leu Arg Glu Glu Lys Ile

50 55 60

Trp Met Met Lys Thr Ala Ile Gln Arg Glu Gly Asn Ser Gly Asp Lys

65 70 75 80

Ile Gln Thr Glu Met

85

<210> 19

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 19

Val Pro Ala Glu Thr Ser Ser Ser Gly Leu Leu Glu Glu Gln Lys Met
 1 5 10 15
 Met Lys Ser Gln Gly Leu Val Ser Phe Lys Asp Val Ala Val Asp Phe
 20 25 30
 Thr Gln Glu Glu Trp Gln Gln Leu Asp Pro Ser Gln Arg Thr Leu Tyr
 35 40 45
 Arg Asp Val Met Leu Glu Asn Tyr Ser His Leu Val Ser Met Gly Tyr
 50 55 60
 Pro Val Ser Lys Pro Asp Val Ile Ser Lys Leu Glu Gln Gly Glu Glu
 65 70 75 80
 Pro Trp Ile Ile Lys
 85

<210> 20

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 20

Met Lys Ser Gln Gly Leu Val Ser Phe Lys Asp Val Ala Val Asp Phe
 1 5 10 15
 Thr Gln Glu Glu Trp Gln Gln Leu Asp Pro Ser Gln Arg Thr Leu Tyr
 20 25 30
 Arg Asp Val Met Leu Glu Asn Tyr Ser His Leu Val Ser Met Gly Tyr
 35 40 45
 Pro Val Ser Lys Pro Asp Val Ile Ser Lys Leu Glu Gln Gly Glu Glu
 50 55 60
 Pro Trp Ile Ile Lys Gly Asp Ile Ser Asn Trp Ile Tyr Pro Asp Glu
 65 70 75 80
 Tyr Gln Ala Asp Gly
 85

<210> 21

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 21

Ala Glu Gly Ser Val Met Phe Ser Asp Val Ser Ile Asp Phe Ser Gln
 1 5 10 15
 Glu Glu Trp Asp Cys Leu Asp Pro Val Gln Arg Asp Leu Tyr Arg Asp
 20 25 30
 Val Met Leu Glu Asn Tyr Gly Asn Leu Val Ser Met Gly Leu Tyr Thr
 35 40 45
 Pro Lys Pro Gln Val Ile Ser Leu Leu Glu Gln Gly Lys Glu Pro Trp
 50 55 60
 Met Val Gly Arg Glu Leu Thr Arg Gly Leu Cys Ser Asp Leu Glu Ser
 65 70 75 80
 Met Cys Glu Thr Lys
 85

<210

> 22

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 22

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

50 55 60
 Gly Lys Val Leu Thr Pro His Pro Ser Ile Leu Ser Trp Ala Arg Leu
 65 70 75 80

Phe Leu Leu Phe Leu
 85

<210> 23

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 23

Ala Ala Ala Ala Leu Arg Asp Pro Ala Gln Val Pro Val Ala Ala Asp

1 5 10 15
 Leu Leu Thr Asp His Glu Glu Gln Gly Tyr Val Thr Phe Glu Asp Val

20 25 30
 Ala Val Tyr Phe Ser Gln Glu Glu Trp Arg Leu Leu Asp Asp Ala Gln

35 40 45
 Arg Leu Leu Tyr Arg Asn Val Met Leu Glu Asn Phe Thr Leu Leu Ala

50 55 60
 Ser Leu Gly Leu Ala Ser Ser Lys Thr His Glu Ile Thr Gln Leu Glu

65 70 75 80
 Ser Trp Glu Glu Pro

85

<210> 24

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 24

Ala Ala Ala Ala Leu Arg Asp Pro Ala Gln Val Pro Val Ala Ala Asp

1 5 10 15

Leu Leu Thr Asp His Glu Glu Gln Gly Tyr Val Thr Phe Glu Asp Val
 20 25 30

Ala Val Tyr Phe Ser Gln Glu Glu Trp Arg Leu Leu Asp Asp Ala Gln
 35 40 45

Arg Leu Leu Tyr Arg Asn Val Met Leu Glu Asn Phe Thr Leu Leu Ala
 50 55 60

Ser Leu Gly Cys Trp His Gly Ala Glu Ala Glu Glu Ala Pro Glu Gln
 65 70 75 80

Ile Ala Ser Val Gly
 85

<210> 25

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 25

Ala Ala Ala Ala Leu Arg Asp Pro Ala Gln Gln Gly Tyr Val Thr Phe
 1 5 10 15

Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Ser Gln Glu Glu Trp Arg Leu Leu Asp
 20 25 30

Asp Ala Gln Arg Leu Leu Tyr Arg Asn Val Met Leu Glu Asn Phe Thr
 35 40 45

Leu Leu Ala Ser Leu Gly Cys Trp His Gly Ala Glu Ala Glu Glu Ala
 50 55 60

Pro Glu Gln Ile Ala Ser Val Gly Leu Leu Ser Ser Asn Ile Gln Gln
 65 70 75 80

His Gln Lys Gln His
 85

<210> 26

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 26

Ala Ala Ala Ala Leu Arg Asp Pro Ala Gln Val Pro Val Ala Ala Asp

1 5 10 15

Leu Leu Thr Asp His Glu Glu Gly Tyr Val Thr Phe Glu Asp Val Ala

20 25 30

Val Tyr Phe Ser Gln Glu Glu Trp Arg Leu Leu Asp Asp Ala Gln Arg

35 40 45

Leu Leu Tyr Arg Asn Val Met Leu Glu Asn Phe Thr Leu Leu Ala Ser

50 55 60

Leu Gly Lys Val Leu Thr Pro His Pro Ser Ile Leu Ser Trp Ala Arg

65 70 75 80

Leu Phe Leu Leu Phe

85

<210> 27

<211> 84

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 27

Tyr Val Thr Phe Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Ser Gln Glu Glu Trp

1 5 10 15

Arg Leu Leu Asp Asp Ala Gln Arg Leu Leu Tyr Arg Asn Val Met Leu

20 25 30

Glu Asn Phe Thr Leu Leu Ala Ser Leu Gly Leu Ala Ser Ser Lys Thr

35 40 45

His Glu Ile Thr Gln Leu Glu Ser Trp Glu Glu Pro Phe Met Pro Ala

50 55 60

Trp Glu Val Val Thr Ser Ala Ile Pro Arg Gly Ser Trp Trp Val Glu

65 70 75 80
Leu Arg Glu Val

<210> 28

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400>

> 28

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

Leu Glu Ser Trp Glu Glu Pro Phe Met Pro Ala Trp Glu Val Val Thr
65 70 75 80
Ser Ala Ile Pro Arg
 85

<210> 29

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 29

Ala Ala Ala Ala Leu Arg Asp Pro Ala Gln Gly Tyr Val Thr Phe Glu
1 5 10 15
Asp Val Ala Val Tyr Phe Ser Gln Glu Glu Trp Arg Leu Leu Asp Asp

20 25 30
 Ala Gln Arg Leu Leu Tyr Arg Asn Val Met Leu Glu Asn Phe Thr Leu
 35 40 45
 Leu Ala Ser Leu Gly Cys Trp His Gly Ala Glu Ala Glu Glu Ala Pro
 50 55 60
 Glu Gln Ile Ala Ser Val Gly Leu Leu Ser Ser Asn Ile Gln Gln His
 65 70 75 80
 Gln Lys Gln His Cys
 85

<210

> 30

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 30

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

 Leu Leu Ala Ser Leu Gly Leu Ala Ser Ser Lys Thr His Glu Ile Thr
 50 55 60
 Gln Leu Glu Ser Trp Glu Glu Pro Phe Met Pro Ala Trp Glu Val Val
 65 70 75 80
 Thr Ser Ala Ile Pro
 85

<210> 31

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 31

Ala Ala Ala Ala Leu Arg Asp Pro Ala Gln Val Pro Val Ala Ala Asp

1 5 10 15
 Leu Leu Thr Asp His Glu Glu Gly Tyr Val Thr Phe Glu Asp Val Ala

 20 25 30
 Val Tyr Phe Ser Gln Glu Glu Trp Arg Leu Leu Asp Asp Ala Gln Arg

 35 40 45
 Leu Leu Tyr Arg Asn Val Met Leu Glu Asn Phe Thr Leu Leu Ala Ser

 50 55 60
 Leu Gly Leu Ala Ser Ser Lys Thr His Glu Ile Thr Gln Leu Glu Ser

65 70 75 80
 Trp Glu Glu Pro Phe

85

<210> 32

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 32

Val Thr Cys Ala His Leu Gly Arg Arg Ala Arg Leu Pro Ala Ala Gln

1 5 10 15

Pro Ser Ala Cys Pro Gly Thr Cys Phe Ser Gln Glu Glu Arg Met Ala
 20 25 30

Ala Gly Tyr Leu Pro Arg Trp Ser Gln Glu Leu Val Thr Phe Glu Asp
 35 40 45

Val Ser Met Asp Phe Ser Gln Glu Glu Trp Glu Leu Leu Glu Pro Ala
 50 55 60

Gln Lys Asn Leu Tyr Arg Glu Val Met Leu Glu Asn Tyr Arg Asn Val
 65 70 75 80

Val Ser Leu Glu Ala

85

<210> 33

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 33

Leu Val Thr Phe Glu Asp Val Ser Met Asp Phe Ser Gln Glu Glu Trp

1 5 10 15

Glu Leu Leu Glu Pro Ala Gln Lys Asn Leu Tyr Arg Glu Val Met Leu

 20 25 30

Glu Asn Tyr Arg Asn Val Val Ser Leu Glu Ala Leu Lys Asn Gln Cys

 35 40 45

Thr Asp Val Gly Ile Lys Glu Gly Pro Leu Ser Pro Ala Gln Thr Ser

 50 55 60

Gln Val Thr Ser Leu Ser Ser Trp Thr Gly Tyr Leu Leu Phe Gln Pro

65 70 75 80

Val Ala Ser Ser His

85

<210> 34

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 34

Lys Asn Ala Thr Ile Val Met Ser Val Arg Arg Glu Gln Gly Ser Ser

1 5 10 15

Ser Gly Glu Gly Ser Leu Ser Phe Glu Asp Val Ala Val Gly Phe Thr

 20 25 30

Arg Glu Glu Trp Gln Phe Leu Asp Gln Ser Gln Lys Val Leu Tyr Lys

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

Gly Ile Ala Glu Gly
 85

<210> 35

<211> 84

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 35

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

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

<210> 36

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400>

> 36

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

Lys Arg Asn Glu Met Ile Ala Lys Pro Ser Val Ser Phe Leu Gln Val
 65 70 75 80
 His Ser Glu Ser Gln
 85

<210> 37

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 37

Gly Pro Leu Gln Phe Arg Asp Val Ala Ile Glu Phe Ser Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Trp His Cys Leu Asp Thr Ala Gln Arg Asn Leu Tyr Arg Asn Val Met
 20 25 30
 Leu Glu Asn Tyr Ser Asn Leu Val Phe Leu Gly Ile Thr Val Ser Lys
 35 40 45
 Pro Asp Leu Ile Thr Cys Leu Glu Gln Gly Arg Lys Pro Leu Thr Met
 50 55 60
 Lys Arg Asn Glu Met Ile Ala Lys Pro Ser Val Met Cys Ser His Phe
 65 70 75 80
 Ala Gln Asp Leu Trp
 85

<210

> 38

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 38

Ala Pro Pro Ser Ala Pro Leu Pro Ala Gln Gly Pro Gly Lys Ala Arg

1 5 10 15

Pro Ser Arg Lys Arg Gly Arg Arg Pro Arg Ala Leu Lys Phe Val Asp

20 25 30

Val Ala Val Tyr Phe Ser Pro Glu Glu Trp Gly Cys Leu Arg Pro Ala

35 40 45

Gln Arg Ala Leu Tyr Arg Asp Val Met Arg Glu Thr Tyr Gly His Leu

50 55 60

Gly Ala Leu Gly Cys Ala Gly Pro Lys Pro Ala Leu Ile Ser Trp Leu

65 70 75 80

Glu Arg Asn Thr Asp

85

<210> 39

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 39

Gln Thr Asn Thr Lys Asp Trp Thr Val Thr Pro Glu His Val Leu Pro

1 5 10 15

Glu Ser Gln Ser Leu Leu Thr Phe Glu Glu Val Ala Met Tyr Phe Ser

20 25 30

Gln Glu Glu Trp Glu Leu Leu Asp Pro Thr Gln Lys Ala Leu Tyr Asn

35 40 45

Asp Val Met Gln Glu Asn Tyr Glu Thr Val Ile Ser Leu Ala Leu Phe

50 55 60
Val Leu Pro Lys Pro Lys Val Ile Ser Cys Leu Glu Gln Gly Glu Glu

65 70 75 80
Pro Trp Val Gln Val

85

<210> 40

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 40

Ala Ala Ala Thr Leu Arg Asp Pro Ala Gln Gln Gly Tyr Val Thr Phe

1 5 10 15

Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Ser Gln Glu Glu Trp Arg Leu Leu Asp

20 25 30

Asp Ala Gln Arg Leu Leu Tyr Arg Asn Val Met Leu Glu Asn Phe Thr

35 40 45

Leu Leu Ala Ser Leu Gly Leu Ala Ser Ser Lys Thr His Glu Ile Thr

50 55 60

Gln Leu Glu Ser Trp Glu Glu Pro Phe Met Pro Ala Trp Glu Val Val

65 70 75 80

Thr Ser Ala Ile Leu

85

<210> 41

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 41

Ala Ala Ala Thr Leu Arg Asp Pro Ala Gln Gly Tyr Val Thr Phe Glu

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

50 55 60
 Leu Glu Ser Trp Glu Glu Pro Phe Met Pro Ala Trp Glu Val Val Thr
 65 70 75 80
 Ser Ala Ile Leu Arg
 85

<210> 42

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 42

Asp Ser Val Ala Phe Glu Asp Val Ala Val Asn Phe Thr Gln Glu Glu
 1 5 10 15

Trp Ala Leu Leu Asp Pro Ser Gln Lys Asn Leu Tyr Arg Glu Val Met
 20 25 30
 Gln Glu Thr Leu Arg Asn Leu Thr Ser Ile Gly Lys Lys Trp Asn Asn
 35 40 45
 Gln Tyr Ile Glu Asp Glu His Gln Asn Pro Arg Arg Asn Leu Arg Arg
 50 55 60
 Leu Ile Gly Glu Arg Leu Ser Glu Ser Lys Glu Ser His Gln His Gly
 65 70 75 80

Glu Val Leu Thr Gln
 85

<210> 43

<211> 529

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

Un1Cas12f1 sequence

<400> 43

Met Ala Lys Asn Thr Ile Thr Lys Thr Leu Lys Leu Arg Ile Val Arg

1 5 10 15

Pro Tyr Asn Ser Ala Glu Val Glu Lys Ile Val Ala Asp Glu Lys Asn

 20 25 30

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

 35 40 45

Ala Cys Ser Lys His Leu Lys Val Ala Ala Tyr Cys Thr Thr Gln Val

 50 55 60

Glu Arg Asn Ala Cys Leu Phe Cys Lys Ala Arg Lys Leu Asp Asp Lys

65 70 75 80

Phe Tyr Gln Lys Leu Arg Gly Gln Phe Pro Asp Ala Val Phe Trp Gln

 85 90 95

Glu Ile Ser Glu Ile Phe Arg Gln Leu Gln Lys Gln Ala Ala Glu Ile

 100 105 110

Tyr Asn Gln Ser Leu Ile Glu Leu Tyr Tyr Glu Ile Phe Ile Lys Gly

 115 120 125

Lys Gly Ile Ala Asn Ala Ser Ser Val Glu His Tyr Leu Ser Asp Val

 130 135 140

Cys Tyr Thr Arg Ala Ala Glu Leu Phe Lys Asn Ala Ala Ile Ala Ser

145 150 155 160

Gly Leu Arg Ser Lys Ile Lys Ser Asn Phe Arg Leu Lys Glu Leu Lys

 165 170 175

Asn Met Lys Ser Gly Leu Pro Thr Thr Lys Ser Asp Asn Phe Pro Ile

 180 185 190

Pro Leu Val Lys Gln Lys Gly Gly Gln Tyr Thr Gly Phe Glu Ile Ser

 195 200 205

Asn His Asn Ser Asp Phe Ile Ile Lys Ile Pro Phe Gly Arg Trp Gln

Lys Val Ala Pro Asn Asn Thr Ser Lys Thr Cys Ser Lys Cys Gly His
 465 470 475 480

Leu Asn Asn Tyr Phe Asn Phe Glu Tyr Arg Lys Lys Asn Lys Phe Pro
 485 490 495

His Phe Lys Cys Glu Lys Cys Asn Phe Lys Glu Asn Ala Asp Tyr Asn
 500 505 510

Ala Ala Leu Asn Ile Ser Asn Pro Lys Leu Lys Ser Thr Lys Glu Glu
 515 520 525

Pro

<210> 44

<211> 529

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 44

Met Ala Lys Asn Thr Ile Thr Lys Thr Leu Lys Leu Arg Ile Val Arg
 1 5 10 15

Pro Tyr Asn Ser Ala Glu Val Glu Lys Ile Val Ala Asp Glu Lys Asn
 20 25 30

Asn Arg Glu Lys Ile Ala Leu Glu Lys Asn Lys Asp Lys Val Lys Glu
 35 40 45

Ala Cys Ser Lys His Leu Lys Val Ala Ala Tyr Cys Thr Thr Gln Val
 50 55 60

Glu Arg Asn Ala Cys Leu Phe Cys Lys Ala Arg Lys Leu Asp Asp Lys
 65 70 75 80

Phe Tyr Gln Lys Leu Arg Gly Gln Phe Pro Asp Ala Val Phe Trp Gln
 85 90 95

Glu Ile Ser Glu Ile Phe Arg Gln Leu Gln Lys Gln Ala Ala Glu Ile
 100 105 110

Tyr Asn Gln Ser Leu Ile Glu Leu Tyr Tyr Glu Ile Phe Ile Lys Gly

115 120 125
 Lys Gly Ile Ala Asn Ala Ser Ser Val Glu His Tyr Leu Ser Arg Val
 130 135 140

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

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

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

Ile Asn Asn Ala Phe Ser Arg Tyr Ser Ile Ser Asp Asn Asp Leu Phe
 340 345 350
 His Phe Asn Lys Lys Met Phe Ala Arg Arg Arg Ile Leu Leu Lys Lys
 355 360 365

Asn Arg His Lys Arg Ala Gly His Gly Ala Lys Asn Lys Leu Lys Pro
 370 375 380

Ile Thr Ile Leu Thr Glu Lys Ser Glu Arg Phe Arg Lys Lys Leu Ile
 385 390 395 400

Glu Arg Trp Ala Cys Glu Ile Ala Asp Phe Phe Ile Lys Asn Lys Val
 405 410 415

Gly Thr Val Gln Met Glu Asn Leu Glu Ser Met Lys Arg Lys Glu Asp
 420 425 430

Ser Tyr Phe Asn Ile Arg Leu Arg Gly Phe Trp Pro Tyr Ala Glu Met
 435 440 445

Gln Asn Lys Ile Glu Phe Lys Leu Lys Gln Tyr Gly Ile Glu Ile Arg
 450 455 460

Lys Val Ala Pro Asn Asn Thr Ser Lys Thr Cys Ser Lys Cys Gly His
 465 470 475 480

Leu Asn Asn Tyr Phe Asn Phe Glu Tyr Arg Lys Lys Asn Lys Phe Pro
 485 490 495

His Phe Lys Cys Glu Lys Cys Asn Phe Lys Glu Asn Ala Ala Tyr Asn
 500 505 510

Ala Ala Leu Asn Ile Ser Asn Pro Lys Leu Lys Ser Thr Lys Glu Arg
 515 520 525

Pro

<210> 45

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 45

tttaaagaga tctggggatc tata

24

<210> 46

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 46
 tttaaagaat gggaaaatta cggg 24
 <210> 47
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 47
 tttaacttgg aaacacagcg aagt 24
 <210> 48
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 48
 ttgcctgtg agttcgaatg cact 24
 <210> 49
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 49
 ttgatgaag tctggcttac agcc 24
 <210> 50
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 50
 tttgcatatc tgatggagaa ctta 24
 <210> 51
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 51
 tttgggaatg tgtttgtaa gcac 24
 <210> 52
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 52
 tttgaatata ctgtggcat ctct 24
 <210> 53
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 53
 tttgcactgg agcagagatg acca 24
 <210> 54
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 54
 tttattctac tctgcaatcc ccta 24
 <210> 55
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 55
 ttttaagattc tgggaggag agaa 24
 <210> 56
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 56
 tttataaatc tattgtgcct caag 24
 <210> 57
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 57
 tttgatgagt gctgtataga tccc 24
 <210> 58
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 58
 ttgctacag cactagtga actg 24

<210> 59
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 59
 ttactgagc cagtctttaa atgc 24

<210> 60
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 60
 ttataaaaa atggcatgac aagg 24

<210> 61
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 61
 ttatcaaaa agcacaacat ttca 24

<210> 62
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 62

tttgctcact gagaatgcat aaga 24

<210> 63

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 63

tttaagttct ccatcagata tgca 24

<210> 64

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 64

tttataaatt cactacagag acac 24

<210> 65

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 65

tttgaaatct gaaagtct tagc 24

<210> 66

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 66

tttggtgata tttgctcat tcgt 24

<210> 67
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 67
 tttatgtttt tcttcaatg ggga 24
 <210> 68
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 68
 tttgtgaagc acctagaatc tata 24
 <210> 69
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 69
 tttaaagact ggctcagtaa aggg 24
 <210> 70
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 70
 tttaattctc tcctgaagga gata 24
 <210> 71

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 71
 tttaaatttc actcagttgt ctct 24
 <210> 72
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 72
 tttgtgtctg ctgagaagaa agat 24

 <210> 73
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 73
 tttgataaat tgtctaata ga ctag 24
 <210> 74
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 74
 tttatTTTTT caccagaac agta 24
 <210> 75
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 75

tttgctgttg tgtctctgta gtga 24

<210> 76

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 76

tttaaaatat tagttccag gact 24

<210> 77

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 77

tttaaatgct agatttgatg agtg 24

<210> 78

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 78

tttaaaagac tctatctctg aatg 24

<210> 79

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 79
 tttatgttct cacaagattc tggg 24

<210> 80

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 80
 tttatgcat tttctcctc tatt 24

<210> 81

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 81
 tttggcattg cttttgggga tctg 24

<210> 82

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 82
 tttacaaat aaagatTTTT gcat 24

<210> 83

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 83
 tttaaaaata acgaatgagc aaaa 24
 <210> 84
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 84
 tttgaaatac agtatttccc agat 24
 <210> 85
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 85
 tttggggatc tgggaaaatc tgtg 24
 <210> 86
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 86
 tttggctttt tgataaattg tcta 24
 <210> 87
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 87
 ttgctcatt cgtatTTTT aaat 24
 <210> 88
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 88
 ttataaaac tcagttatta tatt 24
 <210> 89
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 89
 ttataaaacc caacagaaat cata 24
 <210> 90
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 90
 ttgtgaata atatatgttc aatt 24
 <210> 91
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 91

tttatctctt tgttgatatt ttgc 24
 <210> 92
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 92
 tttagattct attgtatatt ttct 24
 <210> 93
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 93
 tttaaaaaga atagaggag aaaa 24
 <210> 94
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 94
 tttattttaa tctttgaaag tctt 24
 <210> 95
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 95
 tttatttggt aaaattcagt ttct 24
 <210> 96

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 96

tttgtaaataaac ttcagtttct gaat 24

<210> 97

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 97

tttaatcttt gaaagtcttt attt 24

<210> 98

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 98

tttacaaggg cggctggctg ggtg 24

<210> 99

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 99

tttgtcccgg aggaaaccgc ccac 24

<210> 100

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 100
 tttgccctcc gcaaggcggc ctgt 24

<210> 101
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 101
 tttggtttcc gctggcttt gcc 24

<210> 102
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 102
 tttaaaaaa aaaatcaca ggca 24

<210> 103
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 103
 tttgaaagtc tttatTTTT tcta 24

<210> 104
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 104
 ttacaaggg cggctggctg gctg 24
 <210> 105
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 105
 tttaaaata gttttatct cttt 24
 <210> 106
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 106
 tttatTTTT tctaattttt gaaa 24
 <210> 107
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 107
 tttgccccggg tgcggaggcc agcg 24
 <210> 108
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 108
 tttaggacgc ggggttggga cggg 24
 <210> 109
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 109
 ttgccccggg tgcggaggcc accg 24
 <210> 110
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 110
 tttggaacct ggcaaggaga gcga 24
 <210> 111
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 111
 tttgcgggca gccgcctggg ctgt 24
 <210> 112
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 112
 tttggctcgg ggtccaaacg agtc 24
 <210> 113
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 113
 tttgagcggg acccgtacc gggc 24
 <210> 114
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 114
 tttggacccc gagccaaagc gagg 24
 <210> 115
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 115
 tttgctccc gagctctgcg ggca 24
 <210> 116
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 116

tttactcccg gagctctgcg ggca 24

<210> 117

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 117

tttggtttca gaatgagagg tcac 24

<210> 118

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 118

tttacaagag aaaaacaaaa aacc 24

<210> 119

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 119

tttgagaagg atcgctttcc aggc 24

<210> 120

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 120

tttgtttttc tcttgtaaat tttt 24

<210> 121
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 121
 tttaataggg tttttgttt ttct 24

<210> 122
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 122
 tttgtccgga gaaaccgcc cact 24

<210> 123
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 123
 tttgaccgcc aggagctccg cgct 24

<210> 124
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 124
 tttacatgag gttctactac atac 24

<210> 125

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 125
 tttggattcg gggtcaggtt aaga 24
 <210> 126
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 126
 tttagggtta gggtagtga aata 24
 <210> 127
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 127
 tttggcttat aggggctttg tgag 24
 <210> 128
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 128
 tttgtggtaa agagttgtga ttct 24
 <210> 129
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 129
 tttggcctac aggggcttt gtga 24
 <210> 130
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 130
 tttattcact aaatacaaat caca 24
 <210> 131
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 131
 tttatcagtg taattattag tcat 24
 <210> 132
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 132
 tttgcagaga tatgtcaca tccc 24
 <210> 133
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 133

tttggctctag tttatcaac agag 24

<210> 134

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 134

tttgtccagt atgctgcggg ttgt 24

<210> 135

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 135

tttgtttctt gcaatatgtc acaa 24

<210> 136

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 136

tttacctac cctaacccta aacc 24

<210> 137

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 137
 tttggaacgt aggatgtttc catt 24
 <210> 138
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 138
 tttatgacta ataattacac tgat 24
 <210> 139
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 139
 tttagcagga acacactacc tttc 24
 <210> 140
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 140
 tttatcaaca gagctagtat ttac 24
 <210> 141
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 141
 ttttagcctct gcctacagga ggca 24

<210> 142
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 142
 tttacatctc ctgagtgagc attg 24

<210> 143
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 143
 tttgtccatg atttagcagg aaca 24

<210> 144
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 144
 tttgtcatga gagatgtggc agga 24

<210> 145
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 145

tttgggggac gtgctccttc tgca 24
 <210> 146
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 146
 tttaatgatga agcccccttg ctcc 24
 <210> 147
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 147
 tttaccacaa acaacacagc ttca 24
 <210> 148
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 148
 tttgttgtgt gtgtaatgag aaca 24
 <210> 149
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 149
 tttaaggaaa atatgctaata tta 24

<210> 150
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 150
 tttagattca tatgggaata ctga 24
 <210> 151
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 151
 tttatattac actattactt aata 24
 <210> 152
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 152
 tttagctgag ggagattgag tgac 24
 <210> 153
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 153
 tttagaatgc tacctattgc cttc 24
 <210> 154
 <211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 154

tttgctcctt ccttaaggat gtct 24

<210> 155

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 155

tttgtcttca aagaatggcc ttgg 24

<210> 156

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 156

tttgagttt aaaattagca tatt 24

<210> 157

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 157

tttagctttc tggaaacctgg tatg 24

<210> 158

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 158

tttactgac aaccagatga tgta 24

<210> 159

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 159

tttaaatta gcatatttc cttta 24

<210> 160

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 160

tttggtgata tatgacacag agat 24

<210> 161

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 161

tttgattctg atgtaagaaa tgat 24

<210> 162

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 162
 tttgcatctc tgggtcatat atca 24
 <210> 163
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 163
 tttaaactcc aaatacttat gaat 24
 <210> 164
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 164
 tttgaagaca aacatgtctt aata 24
 <210> 165
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 165
 tttgcctaga cagcgtcgga aggt 24
 <210> 166
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 166
 tttattatta gtaataatgt gaaa 24
 <210> 167
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 167
 tttgtattta gtgaataaaa acaa 24
 <210> 168
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 168
 tttgttttta ttcactaaat acaa 24
 <210> 169
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 169
 tttagatcac ctaggtgatc agtg 24
 <210> 170
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 170

tttgttctta ttttaaggaa aata 24

<210> 171
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 171
 tttagtgaat aaaaacaac aaaa 24
 <210> 172
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 172
 tttgtttggt tttattcact aaat 24
 <210> 173
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 173
 ttttagcaga tcctagaaaa gagt 24
 <210> 174
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 174
 tttgcatctt ttgtgtgatg agtg 24

<210> 175

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 175

tttaatatat ctctgaacta atca 24

<210> 176

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 176

tttgtctagg ctctgcttac ttgg 24

<210> 177

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 177

tttaggtta gggtagggt tatg 24

<210> 178

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 178

tttgacatat gtctgcactg atga 24

<210> 179

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 179
 tttgcccgct tcctggctag acct 24
 <210> 180
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 180
 tttgtctagg ctctggctac acag 24
 <210> 181
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 181
 tttgtgtgat gaggcagag atat 24
 <210> 182
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 oligonucleotide
 <400> 182
 tttagggtta gggtagggt tagg 24
 <210> 183
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 183
 tttgtctagg ctctgcctac atag 24
 <210> 184
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 184
 tttaacatat ctctacactg atca 24

 <210> 185
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 185
 tttgcctatg ggggcaatgt gaca 24
 <210> 186
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 186
 tttagatat ctctgcactg atca 24
 <210> 187
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 187

tttgtgatat atatttcac tgct 24

<210> 188

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 188

tttgagcagt gaaatatat atca 24

<210> 189

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 189

tttacataac ttcggtgatc agtg 24

<210> 190

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 190

tttaggcaca gcttagacaa gcgt 24

<210> 191

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 191
 tttgtcaagg atatggctac aggg 24

<210> 192
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 192
 tttgtgagat atctctgcac tgat 24

<210> 193
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 193
 tttgtgacat acttctgtac tgat 24

<210> 194
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 194
 tttgtctctga tcaccaggt gatg 24

<210> 195
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 195
 tttgttgatc agttcagaga tgtg 24
 <210> 196
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 196
 tttgtctacg ctctgcctat gggg 24
 <210> 197
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 197
 tttgtctaca gggggctttg tgat 24
 <210> 198
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 198
 tttgtcgaaa ttcctgtag gcag 24
 <210> 199
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 199
 tttgtgacat acctttgctc tgat 24

<210> 200
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 200
 ttttaggcaga gcttagacta gagt 24

<210> 201
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 201
 tttgtctagg ctctgtctac gggg 24

<210> 202
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 202
 tttgacatat ctctgcactg ttaa 24

<210> 203
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 203

tttggcagag cctagacaag ggtt 24
 <210> 204
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 204
 tttgcctaca gaaggcttg tgac 24
 <210> 205
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 205
 tttgtctaca gggggcttg tgac 24
 <210> 206
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 206
 tttgacacaa tgccccata gaca 24
 <210> 207
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 207
 tttgtgactt ctctctgcac tgat 24
 <210> 208

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 208

tttgtgacat aactctgcac taat 24

<210> 209

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 209

tttgacatag ctctgcacag atca 24

<210> 210

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 210

tttaagcaga gcctagacaa tagt 24

<210> 211

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 211

tttgtgacat atctttgcac tgat 24

<210> 212

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 212
 tttgcctaca ggggacattg tgac 24

<210> 213
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 213
 tttgtctagg ctctgcctaa gggg 24

<210> 214
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 214
 tttgtcatca gttcaggat atgt 24

<210> 215
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 215
 tttgcactga tcaccagga gatg 24

<210> 216
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 216
 tttgtgacac atctctgcac tgat 24
 <210> 217
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 217
 tttgtgacat atccctgcaa tgat 24
 <210> 218
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 218
 tttataagca ctgcctacag ggaa 24
 <210> 219
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 219
 tttgtgacat atttctgcac tgat 24
 <210> 220
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 220
 tttgtgacat atcactgcac tgat 24
 <210> 221
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 221
 tttgacatat ctctgcactg atca 24
 <210> 222
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 222
 tttgtgacat atctatgcac tgat 24
 <210> 223
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 223
 tttatgactt atccctgcac tgat 24
 <210> 224
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 224
 tttgtgacat atctctgcac agat 24
 <210> 225
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 225
 tttgtgacat atctctgcac tgat 24
 <210> 226
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 226
 tttgagatgg agtcttgctc tggt 24
 <210> 227
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 227
 tttgtatatt tagtagagac gagg 24
 <210> 228
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 228

tttgctatca aaagcttggg tcaa 24

<210> 229

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 229

tttaaagaa cacttgcggg gttt 24

<210> 230

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 230

tttaaagat ctctgtggcc aggc 24

<210> 231

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 231

tttgaactat agatacagca gaag 24

<210> 232

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 232

tttaaatat ttaacattta gccc 24

<210> 233
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 233
 tttgatagca aaaggtagaa aaga 24

<210> 234
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 234
 tttggagaat gaaaacgtgc agta 24

<210> 235
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 235
 tttgaaggag atctcacaaa cagg 24

<210> 236
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 236
 tttgaaagg aaacaggctg gaaa 24

<210> 237

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 237
 ttgctgcaa aataaataca cgct 24
 <210> 238
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 238
 tttatcatct atctatctac ctcc 24
 <210> 239
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 239
 ttgtttgaa ctatagatac agca 24
 <210> 240
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 240
 tttgcaactg tgggttttcc agcc 24
 <210> 241
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 241
 tttaaaca gaactcttgt agga 24
 <210> 242
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 242
 ttgacactt aaatctgtga aatc 24
 <210> 243
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 243
 ttgtcgctt caaacaccgc aagt 24
 <210> 244
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 244
 ttacatcca tgattttca ctgt 24
 <210> 245
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 245

tttgtccatc tcacctctcc agat 24

<210> 246

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 246

tttgaagggtt agaactagtg gtct 24

<210> 247

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 247

tttaaggtgc aaaaagtcac tggg 24

<210> 248

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 248

tttacttaca aacgcagact gtgt 24

<210> 249

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 249
 tttgtcacag cagcctttgt cgct 24
 <210> 250
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 250
 tttgaagcga caaaggctgc tgtg 24
 <210> 251
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 251
 tttgtttcca cattacagag tggg 24
 <210> 252
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 252
 tttgccacac cttgttttag aaag 24
 <210> 253
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 253
 tttaatctca gtagacagggg aaca 24

<210> 254
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 254
 tttaaaagaa ttatatcaac cttt 24

<210> 255
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 255
 ttgacctcat ctttgtttga acta 24

<210> 256
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 256
 tttatgatgt gatggagaat tcct 24

<210> 257
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 257

tttactaatc tgcttattac ccac 24

<210> 258

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 258

tttgtgagat ctcttcaaa tact 24

<210> 259

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 259

tttgtgcatt gtctgttact gtgt 24

<210> 260

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 260

tttgcagcaa acatttacat ccat 24

<210> 261

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 261

tttactatct gtcttttcta cctt 24

<210> 262
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 262
 tttatgcctg gcctttccat cctt 24
 <210> 263
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 263
 tttggtttt gaaggttaga acta 24
 <210> 264
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 264
 tttaaattgt agagtgaaca taca 24
 <210> 265
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 265
 tttgctttgc aactgtgggt tttc 24
 <210> 266
 <211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 266

ttagaaagc tcaggttat gatg 24

<210> 267

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 267

tttaaaaaa attcccttc actg 24

<210> 268

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 268

tttaaatttt ccaagccata tggt 24

<210> 269

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 269

tttggttcat gaaattttca gttt 24

<210> 270

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 270

tttgttttaa tctcagtgac aggg 24

<210> 271

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 271

tttaaaca gagtcagcaa atat 24

<210> 272

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 272

tttggtgaga aaaaatgagt tgga 24

<210> 273

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 273

tttattttgc agcaaacatt taca 24

<210> 274

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 274
 tttgctgact cttgttttaa aaga 24
 <210> 275
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 275
 tttgttgttt gcttttctgt gggg 24
 <210> 276
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 276
 tttgcttttc tgtggggttt ttgt 24
 <210> 277
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 277
 tttaacattt agccctttgc agaa 24
 <210> 278
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 278
 tttgacttct tcctctgttt tttg 24
 <210> 279
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 279
 tttgaaaata attaagcaat atct 24
 <210> 280
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 280
 tttagccctt tgcagaaaat attt 24
 <210> 281
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 281
 tttaaaaaa gcaacaaca acaa 24
 <210> 282
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 282

tttgcttttt ttaaaaaaaaa ttcc 24

<210> 283

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 283

tttgtaagta aagttgtaat ggga 24

<210> 284

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 284

tttgtttgtt gttgctttt ctgt 24

<210> 285

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 285

tttgcagaaa atatttgetg actc 24

<210> 286

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 286

tttgggatgc cgaggctagc cgat 24

<210> 287

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 287

tttggtgttg ttgtttgctt tttt 24

<210> 288

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 288

tttgtttggt tgtgtttgc tttt 24

<210> 289

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 289

ttagtagag acgaggttc actg 24

<210> 290

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 290

tctaagact agattcttc tctc 24

<210> 291

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 291
 tctggccttg tccgtgacgt ttaa 24
 <210> 292
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 292
 tctatagcct ggactattgc tgtc 24
 <210> 293
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 293
 tctgttatag tttgctcac tgag 24
 <210> 294
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 oligonucleotide
 <400> 294
 tctggaaca gttgactg gagc 24
 <210> 295
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 295
 tctggggatc tatacagcac tcat 24
 <210> 296
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 296
 tctatatgac tccatcatgt cctt 24
 <210> 297
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 297
 tctggcttac agcctgtcca ctgc 24
 <210> 298
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 298
 tctgcaatcc cctaaggctt tttc 24
 <210> 299
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 299

tctggacttc gctgtgtttc caag 24

<210> 300

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 300

tctgctccag tgcaactgt ttcc 24

<210> 301

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 301

tctagtcatt agacaattta tcaa 24

<210> 302

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 302

tctgtgcaca cttctggaga ccct 24

<210> 303

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 303
 tctatacagc actcatcaaa tcta 24

<210> 304
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 304
 tctactctgc aatcccctaa ggct 24

<210> 305
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 305
 tctgggagga tttgcctgt gagt 24

<210> 306
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 306
 tctgaaagt tcttagcatc cccg 24

<210> 307
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 307
 tctagcattt aaagactggc tcag 24
 <210> 308
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 308
 tctattttcc ttgctgtaac agag 24
 <210> 309
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 309
 tctagtagtt aacaacctca gctt 24
 <210> 310
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 310
 tctgaatgta ttggtctact tgat 24
 <210> 311
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 311
tctgctccat tgtttgctgt tgtg 24

<210> 312
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

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

<400> 312
tctatctctg aatgtattgg tcta 24

<210> 313
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

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

<400> 313
tctgttacag caaggaaaat agaa 24

<210> 314
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

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

<400> 314
tctgctgaga agaaagatga gtgt 24

<210> 315
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

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

<400> 315

tctgatggag aacttaaaat aatc 24
 <210> 316
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 316
 tctggagacc cttgtcatgc catt 24
 <210> 317
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 317
 tctgacttga ggcacaatag attt 24

 <210> 318
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 318
 tctagtgct tcacaaacac attc 24
 <210> 319
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 319
 tctgtggtat tgcagtttca ctac 24
 <210> 320

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 320

tctgtagtga attataaaa ctca 24

<210> 321

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 321

tctattgtat attttctcc ccag 24

<210> 322

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 322

tctgccttct ctgtgtgct tgtg 24

<210> 323

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 323

tctactgttt taattctctc ctga 24

<210> 324

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 324
 tctgggaggg agagaaaaag cctt 24

<210> 325
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 325
 tctgggtgaa aaaataaact gcag 24

<210> 326
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 326
 tctgggaaaa tctgtgcaca cttc 24

<210> 327
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 327
 tctattgtgc ctcaagtcag aagt 24

<210> 328
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 328
 tctgactagt ttggcattgc tttt 24
 <210> 329
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 329
 tctgggaaat actgtatttc aaaa 24
 <210> 330
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 330
 tctattcttt ttaaagact ctat 24
 <210> 331
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 331
 tctgaaataa tgtttatgcc attt 24
 <210> 332
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 332
 tctgtccggc cccaccacca ccac 24
 <210> 333
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 333
 tctgcaccaa tgaaaaaaaa attt 24
 <210> 334
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 334
 tctaaaatac attgagaaaa aatt 24
 <210> 335
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 335
 tctatgattt ctgttgggtt tttt 24
 <210> 336
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 336
 tctaattttt gaaatacagt attt 24
 <210> 337
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 337
 tctgaatatt tatgtttttc ttcc 24
 <210> 338
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 338
 tctgttgggt ttttaaaaat agtt 24
 <210> 339
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 339
 tctgtgtgcc ttgtgatttt tttt 24
 <210> 340
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 340

tctacttgat ggtgtccagt aagt 24

<210> 341

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 341

tctgtgaacc gcgcggtga agac 24

<210> 342

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 342

tctgtgaacc gcgcggtga aaac 24

<210> 343

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 343

tctggcgggc cgcgtctccc gggc 24

<210> 344

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 344

tctaggtctc cgttctct ctcc 24

<210> 345
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 345
 tctacgtgga aatgaacgag agcc 24

<210> 346
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 346
 tctgtctttc cctccgttcc tccc 24

<210> 347
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 347
 tctgcccgcc ttcctcccg cctg 24

<210> 348
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 348
 tctgccctg ccgcgaggag gcgg 24

<210> 349

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 349
 tctgcgcccc cgcgccaccg tcgc 24
 <210> 350
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 350
 tctgggctcc cagcgtcgg cagc 24
 <210> 351
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 351
 tctggccagc tctcccggg cggc 24
 <210> 352
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 352
 tctgcccctg ccgcgcggag gcgt 24
 <210> 353
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 353
 tctgcccgcg tccgtccgtg aaat 24
 <210> 354
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 354
 tctgccgtcg cggcctggct gggc 24
 <210> 355
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 355
 tctaggagag gttgcccctg ctgc 24
 <210> 356
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 356
 tctgcagcag gcgcaacctc tcct 24
 <210> 357
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 357

tctgcgttcc gccgccaggc gctc 24

<210> 358

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 358

tctaggcccg gtgagagact ccac 24

<210> 359

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 359

tctggtcttc tacgtgaaa tgaa 24

<210> 360

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 360

tctgcagtgt ggccggttg gaac 24

<210> 361

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 361
 tctaggtcta ggccccgtga gaga 24
 <210> 362
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 362
 tctgcactcc cctgcggcct gctg 24
 <210> 363
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 363
 tctgggtct cgctctggtc ttct 24
 <210> 364
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 364
 tctggtggcg atgccccggt acgg 24
 <210> 365
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 365
tctgggatcc ggtgacggcg gtcc 24

<210> 366
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 366
tctgctggag gagctttagg acgc 24

<210> 367
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 367
tctgccggcg cggcctggct gggc 24

<210> 368
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 368
tctgggatcc ccgggatgcc cagg 24

<210> 369
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 369

tctgccccggg ctgctcccac agcc 24
 <210> 370
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 370
 tctgaatcct ggactccggg aggc 24
 <210> 371
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 371
 tctgcgggca cccgaaaca tgca 24
 <210> 372
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 372
 tctggaccct gggctccgga atgc 24
 <210> 373
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 373
 tctggtttca gaatcgaagg gcca 24

<210> 374
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 374
 tctgaaacca aatctggacc ctgg 24
 <210> 375
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 375
 tctgaaacca gatctgaatc ctgg 24
 <210> 376
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 376
 tctgtctctc cctccgttcc tccc 24
 <210> 377
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 377
 tctgggctcc cacgcatcgg cagc 24
 <210> 378
 <211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 378

tctggtttca gaattgaagg gcca 24

<210> 379

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 379

tctgttctca ttacacacac aaca 24

<210> 380

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 380

tctaggcaaa cctggattag agtt 24

<210> 381

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 381

tctaaacctt gtatgggctt tgcc 24

<210> 382

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 382

tctacggcag cttgacata tgtc 24

<210> 383

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 383

tctaattccag gttgcctag acag 24

<210> 384

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 384

tctggctgaa tgtctcccc cacc 24

<210> 385

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 385

tctacactct gtctacggca gctt 24

<210> 386

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 386
 tctgtctacg gcagcttga cata 24
 <210> 387
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 387
 tctagtcttt tcctatgtgg gttt 24
 <210> 388
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 388
 tctactatgg agttctgaaa caca 24
 <210> 389
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 389
 tctgtctttg cccgcttctt ggct 24
 <210> 390
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 390
 tctaggttca gtctactatg gagt 24
 <210> 391
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 391
 tctaggcttt ggcctacagg gggc 24
 <210> 392
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 392
 tctgcagcct gtagctcctg ggga 24
 <210> 393
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 393
 tctatcacag tgccccata ggca 24
 <210> 394
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 394

tctggcttca ttttggggga cgtg 24

<210> 395

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 395

tctataggat ccacaggag gggg 24

<210> 396

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 396

tctgacacat ctctgaactg atca 24

<210> 397

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 397

tctatgttct tcaactgcctc atac 24

<210> 398

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 398

tctggcgat cagtcagag agaa 24

<210> 399
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 399
 tctgtctgtc tttgcccgct tctt 24

<210> 400
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 400
 tctgtctggc ttcattttgg ggga 24

<210> 401
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 401
 tctgtggaca gtttctcctc atgg 24

<210> 402
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 402
 tctgttgata aaactagacc aaaa 24

<210> 403

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 403
 tctaaacact actctgctat tagt 24
 <210> 404
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 404
 tctgtgttca gtattccat atga 24
 <210> 405
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 405
 tctacggggg cattgtgaca tate 24
 <210> 406
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 oligonucleotide
 <400> 406
 tctgtgcaga gatatgtcac aaag 24
 <210> 407
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 407
 tctgaaattg tcatgcagtg actc 24
 <210> 408
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 408
 tctaagcctc gtggttagtg ggga 24

 <210> 409
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 409
 tctgtagatc tctgccattc ataa 24
 <210> 410
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 410
 tctgcctaag cttgagtgag tcac 24
 <210> 411
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 411

tctgcctctc aagaattcc tgcc 24

<210> 412

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 412

tctgatgtaa gaaatgatgc tcac 24

<210> 413

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 413

tctgccattc ataagtattt ggag 24

<210> 414

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 414

tctgaaccta gacaggagtt acat 24

<210> 415

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 415
 tctagtttta tcaacagagc tagt 24

<210> 416
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 416
 tctgtttaga atgctaccta ttgc 24

<210> 417
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 417
 tctatccaga aggcaatagg tagc 24

<210> 418
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 418
 tctatatcca gcctcatcta tttc 24

<210> 419
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 419
 tctactacat accaggttcc agaa 24
 <210> 420
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 420
 tctggaacct ggtatgtagt agaa 24
 <210> 421
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 421
 tctggataga atcacaactc tta 24
 <210> 422
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 422
 tctaaacaga gatccttttt tttt 24
 <210> 423
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 423
tctgcatctc ccagagccag cctg 24
<210> 424
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 424
tctgggaagc tgacaatcca tcag 24
<210> 425
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 425
tctgggagat gcagaaggag cacg 24
<210> 426
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 426
tctacagatt tgattctgat gtaa 24
<210> 427
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide
<400> 427

tctgtgtcat atatcaccaa atct 24
 <210> 428
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 428
 tctgaaacac atctgcactg atca 24
 <210> 429
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 429
 tctacagggg atattgtgac atat 24

 <210> 430
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 430
 tctatttctg ctctctctcc ttat 24
 <210> 431
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 431
 tctgctctc ctcttattt tcct 24
 <210> 432

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 432

tctagtgat gtaactcttg tcca 24

<210> 433

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 433

tctggtgat cagtaaagag atat 24

<210> 434

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 434

tctgctatta gtagctgtgt gacc 24

<210> 435

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 435

tctgatcacc caggtgatgt aact 24

<210> 436

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 436
 tctagtgat gtaactcttg tcta 24

<210> 437
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 437
 tctgtaggca gagcctagac aaga 24

<210> 438
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 438
 tctactggga gcattgtgac atat 24

<210> 439
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 439
 tctagccagg aagcgggcaa agac 24

<210> 440
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 440
 tctgggtgat cttgcagag atat 24
 <210> 441
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 441
 tctagacaag agttacatct cctg 24
 <210> 442
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 442
 tctgacatat ctctgcactg atca 24
 <210> 443
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 443
 tctgggtcat cagtcagac atat 24
 <210> 444
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 444
 tctataactct gcctgcaggg acat 24
 <210> 445
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 445
 tctgcaatga tcaactcatgt gatg 24
 <210> 446
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 446
 tctaccctct gcctacaggg ggcg 24
 <210> 447
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 447
 tctgtgccct tgttcttccg tga 24
 <210> 448
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 448
 tctgcactca tcacacaaaa gatg 24
 <210> 449
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 449
 tctaagctct gcctacaggg gcgt 24
 <210> 450
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 450
 tctgcttact tggggattg tgac 24
 <210> 451
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 451
 tctgcctgca gggacatttt gaga 24
 <210> 452
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 452

tctgtctact gggagcattg tgac 24
 <210> 453
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 453
 tctaggctct gcttacttgg ggga 24
 <210> 454
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 454
 tctaggctcc gcccacaggg ggca 24
 <210> 455
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 oligonucleotide
 <400> 455
 tctacacgag aattttaaca tate 24
 <210> 456
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 456
 tctaggctct gtctactggg agca 24

<210> 457
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 457
 tctgtctaca cgagaat ttt aaca 24

<210> 458
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 458
 tctgcctact ggggcgtagt gaca 24

<210> 459
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 459
 tctagactcg acctacaggg gctt 24

<210> 460
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 460
 tctaggctct gcttacgggg gtat 24

<210> 461

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 461
 tctaggccct gcctacaagg gaat 24
 <210> 462
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 462
 tctgcctaca ggggacattg tgac 24
 <210> 463
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 463
 tctaggttca gactacagga gcgt 24
 <210> 464
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 464
 tctgtacgga tcacctgggt tatg 24
 <210> 465
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 465
 tctgcctatg ggggcattgc aaca 24
 <210> 466
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 466
 tctgcctaca gagggcattg tggc 24
 <210> 467
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 467
 tctgtcacia tgcccctgta ggca 24
 <210> 468
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 468
 tctagtgat gtaactcttg cttta 24
 <210> 469
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 469

tctgcttacg ggggtattgt gaca 24

<210> 470

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 470

tctgcactga tcagcccagg gagg 24

<210> 471

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 471

tctgcctaca tgggcattct gaca 24

<210> 472

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 472

tctgtgtatg ggggctttct gaca 24

<210> 473

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 473
 tctgcctatg ggggcactgt gata 24
 <210> 474
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 474
 tctgcctact ggagcattgt gaca 24
 <210> 475
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 475
 tctaagctgt gcctaaaggg gaat 24
 <210> 476
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 476
 tctaggctct gtctacagga gaat 24
 <210> 477
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 477
tctgcctaca taggcattgt gaca 24

<210> 478
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 478
tctgtctacg ggggcattgt gaca 24

<210> 479
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 479
tctgcctact gggggcattg ttac 24

<210> 480
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 480
tctaggctct gcctactggc ggca 24

<210> 481
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 481

tctaagacaa gcgtccatca cctg 24

<210> 482

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 482

tctgcaaaga tcaccagat gatg 24

<210> 483

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 483

tctgccctta tgaccaggt gatg 24

<210> 484

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 484

tctatgcact gatctctgag gtga 24

<210> 485

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 485

tctgaggtga ttcaactctt gtct 24

<210> 486
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 486
 tctgcctact ggcggcattg tcac 24
 <210> 487
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 487
 tctaggctct gcctatgggg gcac 24
 <210> 488
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 488
 tctgcactga taacctaggt gatg 24
 <210> 489
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 489
 tctaggctct gcctacatag gcat 24
 <210> 490
 <211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 490

tctaggcaga gtatagagaa gagt 24

<210> 491

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 491

tctaggctct gcctacagag ggca 24

<210> 492

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 492

tctgaactaa tcatccagga gatg 24

<210> 493

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 493

tctgcctaca gagggcgttg tgac 24

<210> 494

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 494

tctaggcccc acctacaggg ggta 24

<210> 495

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 495

tctacagggg gctttgtgat atat 24

<210> 496

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 496

tctgcctaca gggggcgttg tgaa 24

<210> 497

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 497

tctgcctaca ggaggcattg tgac 24

<210> 498

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 498
 tctatatctg cctactggcg gcat 24
 <210> 499
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 499
 tctgcctatg ggggctttgt gaca 24
 <210> 500
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 500
 tctgtgtatg ggggctttgt gaca 24
 <210> 501
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 501
 tctaggctct gccaaaaggg ggca 24
 <210> 502
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 502
 tctgcttaca gggtgctttg tgac 24
 <210> 503
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 503
 tctacgtctt gcctacagga ggct 24
 <210> 504
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 504
 tctagtctct gcctacagag ggcg 24
 <210> 505
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 505
 tctggctaca cagcattgtg acat 24
 <210> 506
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 506

tctaggctct ggctacacag catt 24

<210> 507
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 507
 tctgcctata ggggccttg tgac 24
 <210> 508
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 508
 tctaggctct gcctactgga gcat 24
 <210> 509
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 509
 tctgcctaga gggggatttg tgac 24
 <210> 510
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 510
 tctgcctaca ggggcattgt gata 24

<210> 511

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 511

tctgtaggca gagactagaa aaga 24

<210> 512

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 512

tctgcctaca ggggcattgc gatg 24

<210> 513

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 513

tctgcctgca ggggcattgt gaaa 24

<210> 514

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 514

tctgcctaca tgggcattgt gaca 24

<210> 515

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 519
 tctataactct gcctagaggg ggat 24
 <210> 520
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 520
 tctatggggg cattgtgtca aata 24

 <210> 521
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 521
 tctgaactga tcaacaaagt gatg 24
 <210> 522
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 522
 tctaggctct gcctacaggg ggca 24
 <210> 523
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 523

tctgcctact ggagacattg tgac 24

<210> 524

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 524

tctgcctact ggcggcattg tggc 24

<210> 525

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 525

tctgcttaca gggggcattg tgac 24

<210> 526

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 526

tctgcctata ggggcattgt gaca 24

<210> 527

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 527
 tctaggatct gcctaaaggg actt 24

<210> 528
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 528
 tctgtctaca gggatttttg tgac 24

<210> 529
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 529
 tctaggctct gcctactggg ggca 24

<210> 530
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 530
 tctgcacaga tcacttaggt gatg 24

<210> 531
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 531
 tctacagggg gctttgtgac atat 24
 <210> 532
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 532
 tctaggctct gtctacgggg gcat 24
 <210> 533
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 533
 tctaggctct gtctacaggg attt 24
 <210> 534
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 534
 tctgtgcaga gctatgtcaa aacg 24
 <210> 535
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 535
tctgcactga tgaccagat gatg 24

<210> 536
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

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

<400> 536
tctgcttaca ggggtattg tgac 24

<210> 537
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

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

<400> 537
tctgcctaca cgggaattct caca 24

<210> 538
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

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

<400> 538
tctgcctaca gggcgtttt gaca 24

<210> 539
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

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

<400> 539

tctgcactaa tcatccaggt gatg 24
 <210> 540
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 540
 tctatgctct gcctacaggg ggca 24
 <210> 541
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 541
 tctaggcact gcctacaggg gaca 24

 <210> 542
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 542
 tctgtgctct gcctacaggg gaca 24
 <210> 543
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 543
 tctgtctatg ggggcattgt gtca 24
 <210> 544

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 544

tctgcactgt taaccgaggt gatg 24

<210> 545

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 545

tctgcctaca gggggcattg tga 24

<210> 546

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 546

tctgcagtga tcacgcaggt gatg 24

<210> 547

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 547

tctgcctaaa gggactttgt gaca 24

<210> 548

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 548
 tctgcctaca ggaggcttta tgac 24

<210> 549
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 549
 tctgcctatg ggggcatagt gaca 24

<210> 550
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 550
 tctgtaggca aagcccatag aagg 24

<210> 551
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 551
 tctgcactga tcacctaggt cata 24

<210> 552
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 552
 tctgcctaca gggggcttgt gaca 24
 <210> 553
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 553
 tctaggctct gcctactgga gaca 24
 <210> 554
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 554
 tctgcctaca gggggcattg tgac 24
 <210> 555
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 555
 tctgcactga tccccaaggt gatg 24
 <210> 556
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 556
 tctgcactga tcaactaggt gatg 24
 <210> 557
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 557
 tctaggctct gcttacaggg ggta 24
 <210> 558
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 558
 tctgcttaaa ggggccttgt caca 24
 <210> 559
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 559
 tctgaactga tcaaccaagt gatg 24
 <210> 560
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 560
 tctgcctaaa ggggcattgt gaca 24
 <210> 561
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 561
 tctgcctact ggggacattg tgac 24
 <210> 562
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 562
 tctgcctaca ggggcgtttt caca 24
 <210> 563
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 563
 tctgcactga tcccagggtg atcc 24
 <210> 564
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 564

tctgcctaca gtggcattgt gaca 24

<210> 565

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 565

tctgcaatga tcaccaggt gatg 24

<210> 566

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 566

tctgcctga tcaccaggt gatg 24

<210> 567

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 567

tctgcctaca ggggcattgc aatg 24

<210> 568

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 568

tctaggctgt gcccacaggg ggat 24

<210> 569
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 569
 tctaggctct gcctacaggg gctt 24

<210> 570
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 570
 tctaggctct gcttaaaggg gcct 24

<210> 571
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 571
 tctgcactga tcactcaggt gatg 24

<210> 572
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 572
 tctgcctatg ggggcattgt gaca 24

<210> 573

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 573
 tctaagctct gcctaaaggg gcat 24
 <210> 574
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 574
 tctgtcacia tgccccttta ggca 24
 <210> 575
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 575
 tctaggctct gcctaagggg gcat 24
 <210> 576
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 576
 tctgactga taaccaggt gatg 24
 <210> 577
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 577
 tctgcactga tcatttaggt gatg 24
 <210> 578
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 578
 tctgcctaca ggggaattgt gaga 24
 <210> 579
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 579
 tctaagctct gcctacagg gcat 24
 <210> 580
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 580
 tctgcctaca ggtgctttg tgac 24
 <210> 581
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 581

tctagtctaa gctctgccta aagg 24

<210> 582

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 582

tctgcactga tcaccgaagt tatg 24

<210> 583

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 583

tctgcactga tctcccaggt gctg 24

<210> 584

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 584

tctgggattt gtctacaggg ggct 24

<210> 585

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 585
 tctgcctaca ggggctttgt gaca 24
 <210> 586
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 586
 tctgcctaca ggagctttgt gaca 24
 <210> 587
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 587
 tctgcactga tcaccagga gacg 24
 <210> 588
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 588
 tctgcctaca gggcattgt gaca 24
 <210> 589
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 589
tctaggctct gcctacaggg ggct 24

<210> 590
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 590
tctgcactga tcacctaggt catg 24

<210> 591
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 591
tctgcactga tcacttaggt gatg 24

<210> 592
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 592
tctaggatct gcctacaggg ggta 24

<210> 593
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 593

tctgcactga tcgcccagat gatg 24
 <210> 594
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 594
 tctaggatct gcctacaggg tgct 24
 <210> 595
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 595
 tctgcactga tcaccaagt aatg 24
 <210> 596
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 596
 tctaggctct gcctacagtg gcat 24
 <210> 597
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 597
 tctaggctct gcctacaggg gcgt 24

<210> 598
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 598
 tctggagtag ctgggactac agtc 24
 <210> 599
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 599
 tctgggatct gcttacaggg ggca 24
 <210> 600
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 600
 tctaggatct gcttacaggg tgct 24
 <210> 601
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 601
 tctgcactga tcaccttggg gatg 24
 <210> 602
 <211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 602

tctgcactga tcaccaggt gact 24

<210> 603

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 603

tctgggctct gcctacagg gcat 24

<210> 604

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 604

tctaggctct gcctacagg gcat 24

<210> 605

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 605

tctgttgccc ggctggaat gcag 24

<210> 606

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 606

tctgcactga tcacctaggt gatg 24

<210> 607

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 607

tctgtactga tcaccaggt gatg 24

<210> 608

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 608

tctgggcttt gtctacaggg ggct 24

<210> 609

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 609

tctacactga tcacctaagt gatg 24

<210> 610

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 610
 tctacactga tcacacaggt gatg 24
 <210> 611
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 611
 tctgcactga tcacctaagt gatg 24
 <210> 612
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 612
 tctgcactga tcaccaggt gaag 24
 <210> 613
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 613
 tctgcacaga tcaccaggt gatg 24
 <210> 614
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 614
 tctgcactga tcaccgaggt gatg 24
 <210> 615
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 615
 tctgcactga tcaccaggt ggtg 24
 <210> 616
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 616
 tctgcactga tcaccctgag gagg 24
 <210> 617
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 617
 tctgcactga tcaccaggg gatg 24
 <210> 618
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 618

tctgcactga tcaccaggt aatg 24

<210> 619
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 619
 tctgcactga tcaccaggt gata 24
 <210> 620
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 620
 tctgcactga tcaaccaggt gatg 24
 <210> 621
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 621
 tctgcactga tcaccaggt catg 24
 <210> 622
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 622
 tctgcactga tcaccaggc gatg 24

<210> 623

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 623

tctgcactga tcaccaagt gatg 24

<210> 624

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 624

tctactaaaa atacaaaaa atta 24

<210> 625

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 625

tctgcactga tcaccaggt gatg 24

<210> 626

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 626

tctacactga tcaccaggt gatg 24

<210> 627

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 627
 tctacctcag atgagatatt gctt 24
 <210> 628
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 628
 tctgtctcgg aatgaaatga attc 24
 <210> 629
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 629
 tctatagttc aaacaaagat gagg 24
 <210> 630
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

 oligonucleotide
 <400> 630
 tctgaggtag aatgtttcta gtgg 24
 <210> 631
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 631
 tctgctgtat ctatagttca aaca 24
 <210> 632
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 632
 tctatactgc ttgaccaag cttt 24

 <210> 633
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 633
 tctagcgtgt atttatTTTg cagc 24
 <210> 634
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 634
 tctgaaacgt ggtatctgga gagg 24
 <210> 635
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 635

tctacctttt gctatcaaaa gctt 24

<210> 636

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 636

tctaggaaca gtaagaggac cttg 24

<210> 637

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 637

tctggagaat tcatttcatt ccga 24

<210> 638

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 638

tctgcttatt accactctg taat 24

<210> 639

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 639
 tctgaggag aaaaactaat cttt 24

<210> 640
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 640
 tctgttactg tgtgcaaggt gaag 24

<210> 641
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 641
 tctagtggtt gtgttctgag ggag 24

<210> 642
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 642
 tctgcttttg gttcatgaaa tttt 24

<210> 643
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 643
 tctggagagg tgagatggac aaag 24
 <210> 644
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 644
 tctgggtcac agctatatta gagc 24
 <210> 645
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 645
 tctgtttcta gcgtgtattt attt 24
 <210> 646
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 646
 tctaatatag ctgtgacca gatg 24
 <210> 647
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 647
tctgcttcac ttcaataaca gcct 24

<210> 648
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 648
tctggaacag ctatgtactt tctt 24

<210> 649
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 649
tctgaaatcc ttttatgcct ggcc 24

<210> 650
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 650
tctgtaatgt ggaacaaat tatt 24

<210> 651
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 651

tctgacacag tctgcgtttg taag 24
 <210> 652
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 652
 tctgggattc ttctgctgga aaaa 24
 <210> 653
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 653
 tctaagaagt ctggattct tctg 24

 <210> 654
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 654
 tctaccattt aaaacaagaa ctct 24
 <210> 655
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 655
 tctgctggaa aaataagttt gttg 24
 <210> 656

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 656

tctgtgaaat cctcatgttt tctt 24

<210> 657

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 657

tctaaagtat attactctgc tttt 24

<210> 658

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 658

tctaaccttc aaaaacaaa cctg 24

<210> 659

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 659

tctggetact ttcatggtat aatg 24

<210> 660

<211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 660
 tctatctggt tactatctgt cttt 24

<210> 661
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 661
 tctgtttact atctgtcttt tcta 24

<210> 662
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 662
 tctaaaacaa ggtgtgcaa acta 24

<210> 663
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 663
 tctgttttct ggaacagcta tgta 24

<210> 664
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 664
 tctgtctttt ctaccttttg ctat 24
 <210> 665
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 665
 tctagttttg cctcatcttt gttt 24
 <210> 666
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 666
 tctgcgtttg taagtaaagt tgta 24
 <210> 667
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 667
 tctgcaaagg gctaaatgtt aaat 24
 <210> 668
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 668
 tctatctatc tgtttactat ctgt 24
 <210> 669
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 669
 tctgtggggg ttttgttggg gttg 24
 <210> 670
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 670
 tctacctcct atcatctatc tacc 24
 <210> 671
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 671
 tctatctacc tcctatcacc tacc 24
 <210> 672
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide
 <400> 672
 tctatctatc tacctcctat catc 24
 <210> 673
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 673
 tctgtggcca ggcgtggtgg ctca 24
 <210> 674
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 674
 tctgtttttt gttgtttgt tggt 24
 <210> 675
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 675
 tctgtaatcc cagcactttg ggat 24
 <210> 676
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 676

tcgaactcac aggcaaaatc ctcc 24

<210> 677

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 677

tcggtatccc cctttactga gcca 24

<210> 678

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 678

tcgaatgcac tttaagattc tggg 24

<210> 679

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 679

tcgggtcttc acccgcgagg ttca 24

<210> 680

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 680

tcgggtggtt cggggcaggg ccgt 24

<210> 681
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 681
 tcgggttttc acccgcgcgg ttca 24

<210> 682
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 682
 tcggcctcgc gccgcgttgc aggg 24

<210> 683
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 683
 tcgggttgcc gtcgggtctt cacc 24

<210> 684
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 684
 tcggcatggc cagcctttcg gggg 24

<210> 685

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 685
 tcggcagcag ggagaaacca gcct 24
 <210> 686
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 686
 tcgggtgggt cggggcaggg cggt 24
 <210> 687
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 687
 tcggcctccg ggagtagcgg gacc 24
 <210> 688
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 688
 tcggaagagg ccgcctcgct ggaa 24
 <210> 689
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 689
 tcgaggcctg gggccggccg gcgg 24
 <210> 690
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 690
 tcgggtgcc gtcgggtttt cacc 24
 <210> 691
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 691
 tcgggggccg gagagacgtg agca 24
 <210> 692
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 692
 tcgggggccg gctctccgga cctc 24
 <210> 693
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 693

tcggtggcct ccgcacccgg gcaa 24

<210> 694

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 694

tcgacgccct gggtccttc cggg 24

<210> 695

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 695

tcggacagca ccctccccgc ggaa 24

<210> 696

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 696

tcgggagggc catcgcggtg agcc 24

<210> 697

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide
 <400> 697
 tcggggcagg gccgtggcct ctct 24
 <210> 698
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 698
 tcggggtcca aacgagtctc cgtc 24
 <210> 699
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 699
 tcggccctgg cccgggagac gcgg 24
 <210> 700
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 700
 tcggcattcc ggagcccagg gtcc 24
 <210> 701
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

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

<400> 701
 tcggaggagc agggcggctct ggga 24

<210> 702
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 702
 tcggggcagg gcggtggcct ctct 24

<210> 703
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 703
 tcgaagggcc aggcaccgga gaca 24

<210> 704
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 704
 tcgattctga aaccagatct gaat 24

<210> 705
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide

<400> 705

tcggaaggtg gggggagaca ttca 24
 <210> 706
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 706
 tcgagtctag acaagagtta catc 24
 <210> 707
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 707
 tcgggttcag gttaagagtt aggg 24
 <210> 708
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 708
 tcggtgatca gtgcagagat acgt 24
 <210> 709
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 709
 tcgacaaatc tctgcactga tcac 24

<210> 710
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 710
 tcgaaattcc ctgtaggcag tgct 24
 <210> 711
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 711
 tcggtgatca gtgcagatgt gttt 24
 <210> 712
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 712
 tcgacctaca ggggctttgt gaca 24
 <210> 713
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 713
 tcggtgatca atgcagcat atgt 24
 <210> 714
 <211> 24

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 714
 tcggttaaca gtgcagagat atgt 24
 <210> 715
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 715
 tcgggatcag tgcagagata tgtc 24
 <210> 716
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 716
 tcggaatgaa atgaattctc caga 24
 <210> 717
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 717
 tcggctagcc tcggcatccc aaag 24
 <210> 718
 <211> 24
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 718

tcgcatccc aaagtgtgg gatt 24

<210> 719

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 719

tctgcctaag gggcattgt gacg 24

<210> 720

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 720

tctaagctct gcctacagga gctt 24

<210> 721

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 721

tctaggctct gcctacagg gaat 24

<210> 722

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 722
 tctgcctaca ggggcattgt gacg 24
 <210> 723
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 723
 tctgcctatg ggggcattgc gaca 24
 <210> 724
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 724
 tctacgctct gcctatgggg gcat 24
 <210> 725
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide
 <400> 725
 tctgcctacg gggcatagtg acat 24
 <210> 726
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide

<400> 726

tctaggctct gtgtatgggg gctt

24