

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2023-504048
(P2023-504048A)

(43)公表日 令和5年2月1日(2023.2.1)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/11 (2006.01)	C 1 2 N	15/11	Z Z N A	4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/09 (2006.01)	C 1 2 N	15/09	1 1 0	4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 8 6
C 1 2 N	15/864 (2006.01)	C 1 2 N	15/864	1 0 0 Z	4 C 0 8 7
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全134頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2022-530897(P2022-530897)	(71)出願人	506115514	ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシテ ィ オブ カリフォルニア The Regents of the U niversity of Califo rnia アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 6 0 7 - 5 2 0 0, オークランド, フ ランクリン ストリート 1 1 1 1, 1 2 番 フロア 110003007 特許業務法人謝国際特許商標事務所 マリ、ブラシャント アメリカ合衆国 9 2 0 9 3 カリフォル ニア州、ラホーヤ、メールコード：0 9 最終頁に続く	
(86)(22)出願日	令和2年12月1日(2020.12.1)	(74)代理人	110003007		
(85)翻訳文提出日	令和4年6月16日(2022.6.16)	(72)発明者	マリ、ブラシャント		
(86)国際出願番号	PCT/US2020/062748				
(87)国際公開番号	WO2021/113264				
(87)国際公開日	令和3年6月10日(2021.6.10)				
(31)優先権主張番号	62/942,725				
(32)優先日	令和1年12月2日(2019.12.2)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/112,492				
(32)優先日	令和2年11月11日(2020.11.11)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA				
		最終頁に続く			

(54)【発明の名称】 環状ガイドRNAの遺伝子操作

(57)【要約】

人工ガイドRNA、人工ガイドRNAを形成するための構築物、それらの医薬組成物、該人工ガイドRNAを作製する方法、及び1つ以上の該人工ガイドRNAまたは該人工ガイドRNAを形成するための構築物を投与することによる被験者の疾患及び障害を治療または予防する方法が開示される。

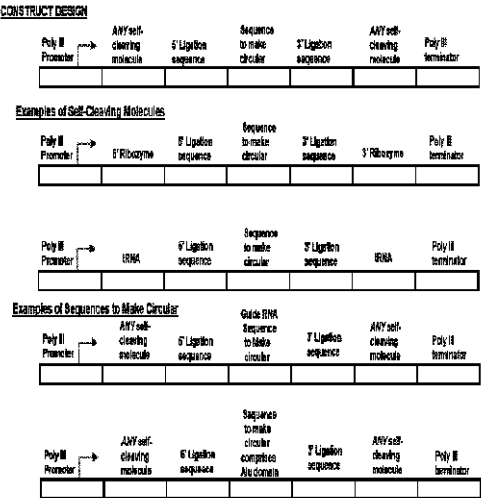


FIG. 1A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

RNA配列中のヌクレオチドを編集するための人工ガイドRNAであって、該人工ガイドRNAが、

RNA編集体リクルートドメインを含み、

該RNA編集体リクルートドメインが、該人工ガイドRNAと結合した場合に、該RNA配列中のヌクレオチドの塩基に対して化学変換を行うRNA編集体をリクルートし、それによって編集されたRNA配列を産生し、該人工ガイドRNAが、環状である、人工ガイドRNA。

【請求項 2】

前記人工ガイドRNAが、標的指向性ドメインをさらに含む、請求項1記載の人工ガイドRNA。

【請求項 3】

前記標的指向性ドメインが、長さが約20個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含む、請求項2に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 4】

前記標的指向性ドメインが、長さが少なくとも約100個のヌクレオチドの配列長を含む、請求項2に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 5】

前記塩基上の化学変換が、前記編集されたRNA配列の少なくとも部分的なノックダウンをもたらす、請求項1～4のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 6】

前記部分ノックダウンが、前記編集されたRNA配列から発現されるタンパク質またはその断片の低減されたレベルを含む、請求項5に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 7】

前記低減されたレベルが、約5%～100%である、請求項6に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 8】

前記低減されたレベルが、約60%～100%である、請求項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 9】

前記部分的なノックダウンまたは低減されたレベルが、さもなければin vitroアッセイにおいて測定された、同一の編集されていないRNA配列と比較して測定される、請求項5～8のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 10】

前記化学変換が、センスコドン読み取りを停止コドンとしてもたらす、請求項1～8のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 11】

前記化学変換が、停止コドン読み取りをセンスコドンとしてもたらす、請求項1～8のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 12】

前記化学変換が、第1センスコドン読み取りを第2センスコドンとしてもたらす、請求項1～8のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 13】

前記化学変換が、第1停止コドン読み取りを第2停止コドンとしてもたらす、請求項1～8のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 14】

前記人工ガイドRNAが、ステム-ループ、十字部、トウホールド、ミスマッチバルジ、またはそれらの任意の組み合わせを含む二次構造を形成するように構成される、請求項1～13のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項 15】

前記RNA編集体リクルートドメインが、Aluドメイン、APOBECリクルートドメイン

10

20

30

40

50

、GluR2ドメイン、またはCas13リクルートドメインの少なくとも約20個の核酸に対して少なくとも約80%の配列相同性を含む、請求項1～14のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項16】

前記RNA編集体リクルートドメインが、前記Aluドメインの少なくとも約20個の核酸に対して少なくとも約80%の配列相同性を含む、請求項15に記載の人工ガイドRNA。

【請求項17】

前記RNA編集体リクルートドメインが、前記Aluドメインに対して少なくとも約80%の配列相同性を含む、請求項16に記載の人工ガイドRNA。

【請求項18】

前記RNA編集体リクルートドメインが、前記APOBECリクルートドメインの少なくとも約20個の核酸に対して少なくとも約80%の配列相同性を含む、請求項15に記載の人工ガイドRNA。

【請求項19】

前記RNA編集体リクルートドメインが、前記APOBECリクルートドメインに対して少なくとも約80%の配列相同性を含む、請求項18に記載の人工ガイドRNA。

【請求項20】

前記RNA編集体リクルートドメインが、Cas13aリクルートドメイン、Cas13bリクルートドメイン、Cas13cリクルートドメイン、またはCas13dリクルートドメインである前記Cas13リクルートドメインを含む、請求項15に記載の人工ガイドRNA。

【請求項21】

前記RNA編集体リクルートドメインが、前記Cas13bリクルートドメインの少なくとも約20個の核酸に対して少なくとも約80%の配列相同性を含む、請求項20に記載の人工ガイドRNA。

【請求項22】

前記配列が、前記Cas13bリクルートドメインに対して少なくとも約80%の配列相同性を含む、請求項21に記載の人工ガイドRNA。

【請求項23】

前記RNA編集体が、内因性酵素である、請求項1～22のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項24】

前記RNA編集体が、組換え酵素である、請求項1～22のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項25】

前記人工ガイドRNAが、修飾を含む、請求項1～24のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項26】

前記修飾が、糖修飾を含む、請求項25に記載の人工ガイドRNA。

【請求項27】

前記人工ガイドRNAのヌクレオチドが、メチル基、フルオロ基、メトキシエチル基、エチル基、リン酸塩基、アミド基、エステル基、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項25に記載の人工ガイドRNA。

【請求項28】

前記人工ガイドRNAが、タンパク質コーティングを含む、請求項1～27のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項29】

前記人工ガイドRNAが、遺伝的にコード可能である、請求項1～28のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項30】

前記RNA編集体が、前記人工ガイドRNAに連結される、請求項1～29のいずれか1項

10

20

30

40

50

に記載の人工ガイドRNA。

【請求項31】

前記人工ガイドRNAと前記RNA編集体との間の連結が、直接的または間接的な共有連結である、請求項30に記載の人工ガイドRNA。

【請求項32】

前記人工ガイドRNAが、生理的pHの水溶液において、比較可能な非環状ガイドRNAよりも少なくとも約4倍長い半減期を保持する、請求項1～31のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項33】

必要とする被験者に投与された前記人工ガイドRNAの治療的有効量が、重量ベースで、比較可能な非環状ガイドRNAよりも少なくとも約4倍少ないである、請求項1～32のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

10

【請求項34】

RNA配列中のヌクレオチドを編集するための人工ガイドRNAであって、該人工ガイドRNAが、RNA編集体リクルートドメインを含み、該RNA編集体リクルートドメインが、該人工ガイドRNAと結合した場合に、該RNA配列中のヌクレオチドの塩基に対して化学変換を行うRNA編集体をリクルートし、かつ該人工ガイドRNAが、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、溶媒に暴露され得る3'還元性ヒドロキシル、またはその両方を含まない、人工ガイドRNA。

20

【請求項35】

RNA配列中のヌクレオチドを編集するための人工ガイドRNAであって、該人工ガイドRNAが、

RNA編集体リクルートドメインを含み、

該RNA編集体リクルートドメインが、該人工ガイドRNAと結合した場合に、該RNA配列中のヌクレオチドの塩基に対して化学変換を行うRNA編集体をリクルートし、それによって編集されたRNA配列を産生し、

該人工ガイドRNAは、ヒト細胞中に天然に存在するmRNAよりも加水分解の影響を受けにくい二次構造を含む、

30

人工ガイドRNA。

【請求項36】

前記人工ガイドRNAが、標的指向性ドメインをさらに含む、請求項34または請求項35に記載の人工ガイドRNA。

【請求項37】

前記標的指向性ドメインが、長さが約20個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含む、請求項36に記載の人工ガイドRNA。

【請求項38】

前記標的指向性ドメインが、長さが少なくとも約100個のヌクレオチドの配列長を含む、請求項36に記載の人工ガイドRNA。

40

【請求項39】

前記塩基上の化学変換が、前記編集されたRNA配列の少なくとも部分的なノックダウンをもたらす、請求項34～38のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項40】

前記少なくとも部分的なノックダウンが、前記編集されたRNA配列から発現されるタンパク質またはその断片の低減されたレベルを含む、請求項39に記載の人工ガイドRNA。

【請求項41】

前記低減されたレベルが、約5%～100%である、請求項40に記載の人工ガイドRNA。

【請求項42】

50

前記低減されたレベルが、約60%~100%である、請求項41に記載の人工ガイドRNA。

【請求項43】

前記化学変換が、センスコドン読み取りを停止コドンとしてもたらず、請求項34~42のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項44】

前記化学変換が、停止コドン読み取りをセンスコドンとしてもたらず、請求項34~42のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項45】

前記化学変換が、第1センスコドン読み取りを第2センスコドンとしてもたらず、請求項34~42のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項46】

前記人工ガイドRNAが、予めに曲げられた環状RNA配列である、請求項1~45のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項47】

前記人工ガイドRNAが、曲げられていない環状RNA配列と比較して、低減されたエン트로ピーを含む、請求項1~46のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA。

【請求項48】

請求項1~47のいずれか1項に記載の人工ガイドRNAを含む、ベクター。

【請求項49】

前記ベクターが、リボソーム、ウイルスベクター、ナノ粒子、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項48に記載のベクター。

【請求項50】

前記ベクターが、ウイルスベクターであり、該ウイルスベクターが、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターである、請求項49に記載のベクター。

【請求項51】

前記ベクターが、DNAを含む、請求項48~50のいずれか1項に記載のベクター。

【請求項52】

前記DNAが、二本鎖である、請求項51に記載のベクター。

【請求項53】

請求項1~47のいずれか1項に記載の人工ガイドRNAをコードする、核酸。

【請求項54】

前記核酸が、二本鎖である、請求項53に記載の核酸。

【請求項55】

請求項1~47のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA、請求項48~52のいずれか1項に記載のベクター、または請求項53または54に記載の核酸を含む、単離された細胞。

【請求項56】

環状RNAを形成する方法であって、該方法が、人工ガイドRNAを含む配列の2つ以上の末端間に共有連結を直接的または間接的に形成し、環状RNAを形成することを含み、

該人工ガイドRNAが、

RNA編集体リクルートドメインを含み、該RNA編集体リクルートドメインが、該人工ガイドRNAと結合した場合に、RNA配列中のヌクレオチドの塩基に対して化学変換を行うRNA編集体をリクルートし、それによって編集されたRNA配列を産生する方法。

【請求項57】

前記方法が、前記共有連結を形成するために酵素を使用する、請求項56に記載の方法。

【請求項58】

前記酵素が、リガーゼである、請求項56または57に記載の方法。

【請求項59】

10

20

30

40

50

前記人工ガイドRNAが、標的指向性ドメインをさらに含む、請求項56～58のいずれか1項に記載の方法。

【請求項60】

前記標的指向性ドメインが、長さが約20個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含む、請求項59に記載の方法。

【請求項61】

前記標的指向性ドメインが、長さが少なくとも約100個のヌクレオチドの配列長を含む、請求項59に記載の方法。

【請求項62】

前記塩基上の化学変換が、前記編集されたRNA配列の少なくとも部分的なノックダウンをもたらす、請求項56～61のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項63】

前記少なくとも部分的なノックダウンが、前記編集されたRNA配列から発現されるタンパク質またはその断片の低減されたレベルを含む、請求項62に記載の方法。

【請求項64】

前記低減されたレベルが、約5%～100%である、請求項63に記載の方法。

【請求項65】

前記低減されたレベルが、約60%～100%である、請求項64に記載の方法。

【請求項66】

前記部分的なノックダウンまたは低減されたレベルが、さもなければin vitroアッセイにおいて測定された、同一の編集されていないRNA配列と比較して測定される、請求項63～65のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項67】

前記化学変換が、センスコドン読み取りを停止コドンとしてもたらす、請求項56～65のいずれか1項に記載の方法。

【請求項68】

前記化学変換にが、停止コドン読み取りをセンスコドンとしてもたらす、請求項56～65のいずれか1項に記載の方法。

【請求項69】

前記化学変換が、第1センスコドン読み取りを第2センスコドンとしてもたらす、請求項56～65のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項70】

請求項1～47のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA、請求項48～52のいずれか1項に記載のベクター、または請求項53または54に記載の核酸、及び薬剤的に許容される賦形剤、希釈剤または担体を含む、医薬組成物。

【請求項71】

単位用量形態での請求項69に記載の医薬組成物。

【請求項72】

RNA編集体をさらに含む、請求項70に記載の医薬組成物。

【請求項73】

40

前記RNA編集体が、組換えRNA編集体である、請求項71に記載の医薬組成物。

【請求項74】

前記RNA編集体が、前記人工ガイドRNAに直接的または間接的に連結される、請求項70～73のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項75】

前記RNA編集体と前記人工ガイドRNAとの間の連結が、共有連結である、請求項74に記載の医薬組成物。

【請求項76】

請求項1～47のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA、請求項48～52のいずれか1項に記載のベクター、または請求項70～75のいずれか1項に記載の医薬組成物、及び容器

50

を含む、キット。

【請求項 77】

パッケージに、請求項1～47のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA、請求項48～52のいずれか1項に記載のベクター、または請求項70～75のいずれか1項に記載の医薬組成物を少なくとも部分的に包装することを含む、キットの作製方法。

【請求項 78】

請求項1～47のいずれか1項に記載の人工ガイドRNA、請求項48～52のいずれか1項に記載のベクター、または請求項70～75のいずれか1項に記載の医薬組成物を、それを必要とする被験者に投与することを含む、該被験者を治療する方法。

【請求項 79】

修飾された伝達RNA、RNA編集体、またはそれらの組み合わせを、それを必要とする被験者に投与することをさらに含む、請求項78に記載の方法。

【請求項 80】

前記修飾された伝達RNA、RNA編集体、またはそれらの組み合わせが、前記人工ガイドRNA、前記ベクター、または前記医薬組成物と同時に投与される、請求項79に記載の方法。

【請求項 81】

前記修飾された伝達RNA、RNA編集体、またはそれらの組み合わせが、前記人工ガイドRNA、前記ベクター、または前記医薬組成物に直接的または間接的に連結される、請求項79または80に記載の方法。

【請求項 82】

前記人工ガイドRNA、前記ベクター、または前記医薬組成物への連結が、共有連結である、請求項81に記載の方法。

【請求項 83】

前記投与が、静脈内注射、筋肉内注射、髄腔内注射、眼窩内注射、皮下注射、またはそれらの任意の組み合わせによって行う、請求項78～82のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 84】

前記被験者に第2の治療薬を投与することをさらに含む、請求項78～83のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 85】

前記被験者が、神経変性障害、筋肉障害、代謝障害、眼障害、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される疾患または状態を有するか、または疑われる、請求項78～83のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 86】

前記疾患または状態が、アルツハイマー病、筋ジストロフィー、網膜色素変性症、パーキンソン病、疼痛、スターガルト黄斑ジストロフィー、シャルコー・マリー・トゥース病、またはレット症候群である、請求項85に記載の方法。

【請求項 87】

前記疾患または状態が、デュシェンヌ型の筋ジストロフィー(DMD)である、請求項86に記載の方法。

【請求項 88】

前記被験者が、哺乳動物である、請求項78～87のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 89】

前記哺乳動物が、ヒトである、請求項88に記載の方法。

【請求項 90】

前記被験者が、診断法により疾患または状態と診断されている、請求項78～89のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 91】

前記方法が、前記医薬組成物を単位用量形態で製剤化することを含む、請求項70～75のいずれか1項に記載の医薬組成物を製造する方法。

10

20

30

40

50

【請求項 9 2】

前記方法が、前記人工ガイドRNAを遺伝的にコードするか、または前記人工ガイドRNAを化学的に合成することを含む、請求項1～47のいずれか1項に記載の人工ガイドRNAを作製する方法。

【請求項 9 3】

前記方法が、前記人工ガイドRNAの2つ以上の末端間に共有連結を直接的または間接的に形成し、環状RNAを形成することを含み、該人工ガイドRNAが、自己切断体を用いて処理される、請求項1～47のいずれか1項に記載の人工ガイドRNAを作製する方法。

【請求項 9 4】

前記自己切断体が、リボザイムである、請求項93に記載の方法。

10

【請求項 9 5】

前記リボザイムが、RNase Pである、請求項94に記載の方法。

【請求項 9 6】

前記自己切断体が、tRNAである、請求項93に記載の方法。

【請求項 9 7】

前記自己切断体が、アプタマーまたはその触媒的活性断片である、請求項93に記載の方法。

【請求項 9 8】

前記人工ガイドRNAの2つ以上の末端間に共有結合を形成するために酵素をリクルートすることをさらに含む、請求項93に記載の方法。

20

【請求項 9 9】

前記方法が、連結要素を用いて、前記人工ガイドRNAの2つ以上の末端を連結することを含む、請求項1～47のいずれか1項に記載の人工ガイドRNAを作製する方法。

【請求項 1 0 0】

前記連結要素が、環状配列を形成するためにクリックケミストリーを使用する、請求項99に記載の方法。

【請求項 1 0 1】

前記連結要素が、アジドに基づく連結である、請求項99に記載の方法。

【請求項 1 0 2】

環状ガイドRNA配列を形成するための構築物であって、該構築物が、
(a) RNA編集体リクルートドメインを含む環状化のためのガイドRNA配列；
(b) 連結配列；及び
(c) リボザイム
をコードするヌクレオチド配列を含む、
構築物。

30

【請求項 1 0 3】

前記人工ガイドRNAが、標的指向性ドメインをさらに含む、請求項102に記載の構築物。

【請求項 1 0 4】

前記標的指向性ドメインが、長さが約20個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含む、請求項103に記載の構築物。

40

【請求項 1 0 5】

前記標的指向性ドメインが、長さが少なくとも約100個のヌクレオチドの配列長を含む、請求項103に記載の構築物。

【請求項 1 0 6】

前記RNA編集体リクルートドメインが、Aluドメイン、APOBECリクルートドメイン、GluR2ドメイン、Cas13リクルートドメイン、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項102に記載の構築物。

【請求項 1 0 7】

前記RNA編集体リクルートドメインが、配列番号1418または配列番号1419の少なく

50

とも約400個のヌクレオチドに対して少なくとも約80%の配列相同性を含む、請求項102に記載の構築物。

【請求項108】

前記RNA編集体リクルートドメインが、配列番号1418または配列番号1419に対して少なくとも約80%の配列相同性を含む、請求項107に記載の構築物。

【請求項109】

前記ガイドRNA配列の5'末端または3'末端が、前記連結配列によって隣接される、請求項102～108のいずれか1項に記載の構築物。

【請求項110】

前記連結配列の5'末端または3'末端が、前記リボザイムによって隣接される、請求項109に記載の構築物。

【請求項111】

前記ヌクレオチド配列が、少なくとも2つのリボザイム、少なくとも2つの連結配列、またはそれらの組み合わせをコードする、請求項102～110のいずれか1項に記載の構築物。

【請求項112】

前記ヌクレオチド配列が、表1～12中のいずれかのポリヌクレオチドに対して少なくとも約80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも99%、または100%の配列相同性を有する配列を含む、請求項102～111のいずれか1項に記載の構築物。

【請求項113】

環状RNA配列を形成するための構築物であって、該構築物が、

(a)環状化のためのRNA配列；

(b)連結配列；及び

(c)tRNA

をコードするヌクレオチド配列を含む、構築物。

【請求項114】

前記ガイドRNA配列の5'末端または3'末端が、前記連結配列によって隣接され、該連結配列の5'末端または3'末端が、前記tRNAによって隣接される、請求項113に記載の構築物。

【請求項115】

前記ヌクレオチド配列が、少なくとも2つのリボザイム、少なくとも2つの連結配列、またはそれらの組み合わせをコードする、請求項114に記載の構築物。

【請求項116】

環状RNA配列を形成するための構築物であって、該構築物が、

(a)環状化のためのRNA配列；

(b)連結配列；及び

(c)アプタマーまたはその触媒的活性断片

をコードするヌクレオチド配列を含む、構築物。

【請求項117】

前記ガイドRNA配列の5'末端または3'末端が、前記連結配列によって隣接され、該連結配列の5'末端または3'末端が、前記アプタマーまたはその触媒的活性断片によって隣接される、請求項116に記載の構築物。

【請求項118】

前記ヌクレオチド配列が、少なくとも2つのリボザイム、少なくとも2つの連結配列、またはそれらの組み合わせをコードする、請求項117に記載の構築物。

【請求項119】

標的RNAに少なくとも部分的に相補的である標的指向性ドメインを含む人工ポリヌク

10

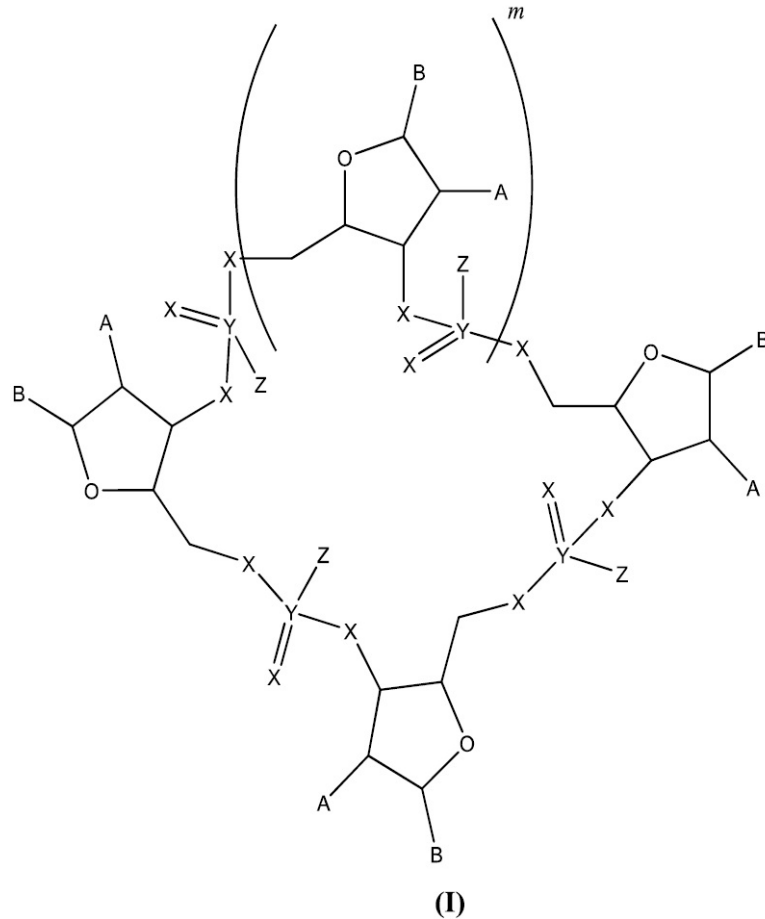
20

30

40

50

レオチドであって、該人工ポリヌクレオチドが、式(I)の構造を含み、



式中：

各Xは、Oであり；

各Yは、Pであり；

各Zは、OまたはSであり；

各Aは、独立してH、D、ハロゲン、OM、SM、NRM、またはNRR'であり；

各Bは、独立してウラシル、チミン、アデニン、シトシン、グアニン、これらのいずれかの塩、またはこれらのいずれかの誘導体であり；

各Mは、独立して無機または有機の陽イオン、H、またはDであり；

各R及びR'は、各々独立してH、D、ハロゲン、またはC₁-C₆アルキルであり；

mは、独立して0~1,000の整数であり；

前記標的指向性ドメインは、前記標的RNAのコード領域と少なくとも部分的に結合するように構成され、かつ、該標的指向性ドメインと該標的RNAのコード領域との結合は、RNA編集体による該標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集を促進する、人工ポリヌクレオチド。

【請求項120】

前記RNA編集体による前記標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集が、

(i)前記標的RNAを初代細胞株に直接的または間接的に導入すること、

(ii)前記人工ポリヌクレオチドを該初代細胞株に直接的または間接的に導入すること、及び

(iii)該標的RNAを配列決定すること

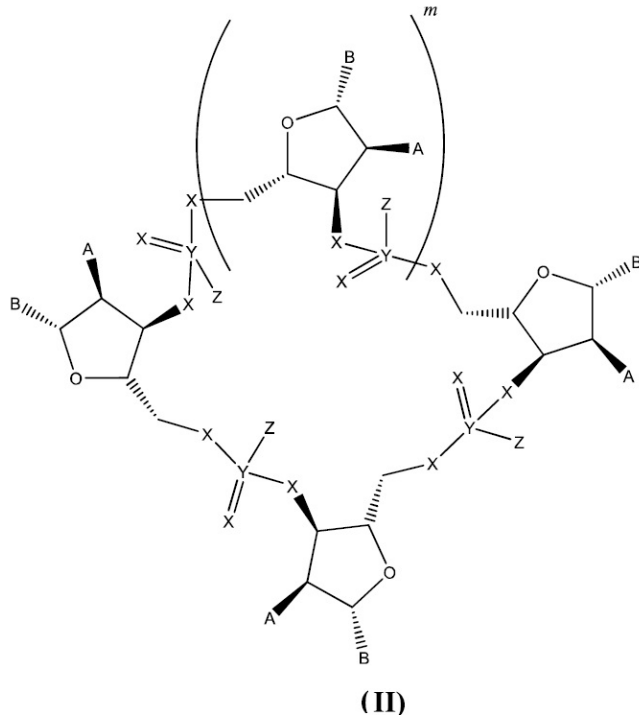
を含むin vitroアッセイにおいて決定される、請求項119に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項121】

各ユニット m が、独立して(D)-または(L)-配置である、請求項119～120のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項122】

式(I)が、式(II)による、請求項119～121のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。



10

20

【請求項123】

各 Z が、 O であり、各 R が、 H である、請求項119～122のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項124】

m が、約30～600の独立した整数である、請求項119～123のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項125】

少なくとも部分的に相補的であるのが、前記標的RNAに対する逆補体に対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含む標的指向性ドメインを含む、請求項119～124のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項126】

前記RNA編集体が、ADARタンパク質、APOBECタンパク質、またはその両方を含む、請求項119～125のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項127】

前記RNA編集体が、ADARを含み、該ADARが、ADAR1またはADAR2を含む、請求項119～126のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項128】

前記塩基の編集が、センスコドンに停止コドンに変換する、請求項119～127のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項129】

前記塩基の編集が、停止コドンにセンスコドンに変換する、請求項119～128のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項130】

前記塩基の編集が、第1センスコドンに第2センスコドンに変換する、請求項119～12

30

40

50

9のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項131】

前記塩基の編集が、第1アミノ酸を特定するセンスコドン、第2アミノ酸を特定する第2センスコドンに変換する、請求項119～130のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

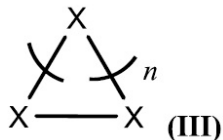
【請求項132】

前記第1アミノ酸が、プロテアーゼ切断部位である、請求項131に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項133】

標的RNAに少なくとも部分的に相補的である標的指向性ドメインを含む人工ポリヌクレオチドであって、該人工ポリヌクレオチドが、式(III)の構造を含み、

10



式中、該人工ポリヌクレオチドにおいて、各Xは、独立してウラシル、チミン、アデニン、シトシン、グアニン、これらのいずれかの塩、またはこれらのいずれかの誘導体を含むヌクレオチドであり；

20

nは、独立して0～1,000の整数であり；また、

各ヌクレオチドは、各連結に対して独立してホスホエステル、ホスホチオエステル、ホスホチオエート、またはホスホルアミダイト連結によって隣接する2個のヌクレオチドに連結され；また、

前記標的指向性ドメインは、前記標的RNAのコード領域と少なくとも部分的に結合するように構成され；ここで、該標的指向性ドメインと該標的RNAのコード領域との結合は、RNA編集体による該標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集を促進する、人工ポリヌクレオチド。

【請求項134】

前記RNA編集体による前記標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集が、

30

(i)前記標的RNAを初代細胞株に直接的または間接的に導入すること、

(ii)該人工ポリヌクレオチドを該初代細胞株に直接的または間接的に導入すること、及び

(iii)該標的RNAを配列決定すること

を含むin vitroアッセイにおいて決定される、請求項133に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項135】

前記RNA編集体が、ADARタンパク質、APOBECタンパク質、またはその両方を含む、請求項133または134に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項136】

前記RNA編集体が、ADARを含み、該ADARが、ADAR1またはADAR2を含む、請求項134～135のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

40

【請求項137】

前記初代細胞株が、ニューロン細胞、光受容体細胞、網膜色素上皮細胞、グリア細胞、筋芽細胞、筋管細胞、肝細胞、肺上皮細胞、または線維芽細胞を含む、請求項119～136のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項138】

前記人工ポリヌクレオチドが、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、3'還元性ヒドロキシル、またはその両方を含まない、請求項119～137のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項139】

50

各5'ヒドロキシル及び各3'ヒドロキシルが、独立して共有酸素リン結合によってリンに結合される、請求項138に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項140】

前記リンが、ホスホジエステル基に含有される、請求項139に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項141】

前記人工ポリヌクレオチドが、RNA編集体リクルートドメインをさらに含む、請求項119～140のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項142】

前記標的指向性ドメインが、約20個から約150個までのヌクレオチドである、請求項119～141のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項143】

前記標的RNAが、ナンセンス変異を含む、請求項119～142のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項144】

前記標的指向性ドメインが、前記標的RNAに対してミスマッチされた少なくとも1つの単一ヌクレオチドを含む、請求項119～143のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項145】

前記ミスマッチされたヌクレオチドが、前記標的RNAに相補的な2個のヌクレオチド（該ミスマッチされたヌクレオチドの各側に1つずつ）に隣接している、請求項144に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項146】

前記標的指向性ドメインが、疾患または状態で実施される標的RNAに少なくとも部分的に結合する、請求項119～145のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項147】

レット症候群、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、筋ジストロフィー、またはテイ・サックス病を含む疾患または状態を含む、請求項146に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項148】

塩基の編集は、さもなければ該編集を欠く同一の標的RNAの翻訳されたタンパク質と比較して、タンパク質またはその断片のレベルの増加、タンパク質またはその断片の長さの増加、タンパク質またはその断片の機能性の増強、タンパク質またはその断片の安定性の向上、またはそれらの任意の組み合わせをもたらす、請求項119～147のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項149】

前記レベルの増加が、約5%～約100%である、請求項148に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項150】

前記長さの増加が、前記タンパク質またはその断片の約5%～約100%である、請求項148に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項151】

前記安定性の向上が、前記タンパク質またはその断片の半減期の延長である、請求項148に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項152】

前記人工ポリヌクレオチドが、表1～12中のいずれかのポリヌクレオチドに対して少なくとも約80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも99%、または100%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含む、請求項119～151のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

10

20

30

40

50

【請求項 153】

前記人工ポリヌクレオチドが、表1～12中のいずれかのポリヌクレオチドの配列長の少なくとも約80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも99%、または100%の長さを有するポリヌクレオチド配列を含む、請求項119～152のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項 154】

前記人工ポリヌクレオチドが、表1～12中のいずれかのポリヌクレオチドに対して少なくとも約80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも99%、または100%の配列相同性、かつ、少なくとも約80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも99%、または100%の配列長を有するポリヌクレオチド配列を含む、請求項119～153のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項 155】

標的RNAに少なくとも部分的に相補的である標的指向性ドメインを含む人工ガイドRNAであって、該人工ガイドRNAが、互いに共有連結した複数の糖及びリン酸塩部分を含む骨格を含み、該骨格が、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、3'還元性ヒドロキシル、またはその両方を含まず、前記標的指向性ドメインは、前記標的RNAのコード領域と少なくとも部分的に結合するように構成され、前記標的指向性ドメインと前記標的RNAのコード領域との結合は、RNA編集体による該標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集を促進する、

人工ガイドRNA。

【請求項 156】

標的RNAに少なくとも部分的に相補的である標的指向性ドメインと、RNA編集体リクルートドメインとを含む人工ガイドRNAであって、該RNA編集体リクルートドメインが、RNA編集体と少なくとも一時的に結合するように構成され、該人工ガイドRNAが、互いに共有結合された複数の糖及びリン酸塩部分を含む骨格を含み、該骨格が、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、3'還元性ヒドロキシル、またはその両方を含まず、前記標的指向性ドメインは、前記標的RNAのコード領域と少なくとも部分的に結合するように構成され、前記標的指向性ドメインと前記標的RNAのコード領域との結合は、RNA編集体による該標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集を促進する、

人工ガイドRNA。

【請求項 157】

少なくとも部分的に相補的であるのが、前記標的RNAに対する逆補体に対して少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、または少なくとも約95%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含む標的指向性ドメインを含む、請求項155または156に記載の人工ポリヌクレオチド。

【請求項 158】

RNA編集体による前記標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集が、

(i) 前記標的RNAを初代細胞株に遺伝子導入すること、

(ii) 該人工ポリヌクレオチドを初代細胞株に遺伝子導入すること、及び

(iii) 該標的RNAを配列決定すること

を含むin vitroアッセイにおいて決定される、請求項155～157のいずれか1項に記載の人工ポリヌクレオチド。

【発明の詳細な説明】

【関連する用途への相互参照】

【0001】

本願は、米国特許法第35条第119項に基づいて、2019年12月2日に出願された米国仮出願第62/942,725号及び2020年11月11日に出願された米国仮出願第63/112,492号の優先権を主張する。これらの開示内容は、あらゆる目的のため、参照により本明細書に組み込まれる。

【政府支援に関する陳述】

【0002】

本発明は、国立衛生研究所によって授与された認可番号R01GM123313、R01CA222826、及びR01HG009285の政府支援でなされた。政府は、本発明において一定の権利を有する。

【発明の分野】

【0003】

本開示は、人工ガイドRNA、その医薬組成物、該人工ガイドRNAの製作方法、及び1種以上の該人工ガイドRNAの投与による被験者の治療方法を提供する。

【配列表の参照による組み込み】

【0004】

配列表"00015-380W01_SL25"（2020年12月1日作成、データ量374,077バイト、IBM-PC、MS-Windows OSでフォーマットされた）は、本願に付随している。該配列表は、あらゆる目的のため、その全体の参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0005】

RNA編集空間の障害となるのは、ガイド安定性である。内因性ADARを正常にリクルートするには、adRNAが長期間存在する必要があるが、一本鎖RNAの半減期は哺乳類細胞において約30分間以下である。これは、5'末端または3'末端から一本鎖RNAを分解するエキソヌクレアーゼに対する感受性が原因でありうる。

【概要】

【0006】

本開示の一態様は、ヌクレオチドの編集のための人工ガイドRNAを提供する。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、標的指向性ドメインを含むことができる。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、RNA編集体リクルートドメインを含むことができる。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、RNA編集体リクルートドメインを含まなくてもよい。いくつかの場合では、RNA編集体リクルートドメインは、RNA配列中のヌクレオチドの塩基に対して化学変換を行い、それによって編集されたRNA配列を産生するRNA編集体をリクルートできる場合がある。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、環状であってもよい。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、ステムループ、十字部、トウホールド、ミスマッチバルジ、それらの2種以上、またはそれらの任意の組み合わせを含む二次構造を形成できる場合がある。いくつかの場合では、前記RNA編集体リクルートドメインは、Aluドメイン、APOBECリクルートドメイン、またはGluR2ドメインに対して少なくとも約80%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、1つ以上のRNA編集体リクルートドメインを含むことができる。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、Cas13リクルートドメインを含むことができる。いくつかの場合では、RNA編集体は、内因性酵素であってもよい。いくつかの場合では、RNA編集体は、組換え酵素であってもよい。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAの少なくとも1つの塩基は、修飾された塩基であってもよい。いくつかの場合では、該修飾された塩基は、糖修飾を含んでもよい。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、遺伝的にコードされてもよい。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAがRNA編集体及び標的指向性ドメインの少なくとも一部に相補的な標的核酸と接触すると、該人工ガイドRNAは、(i)比較可能な非環状核酸の少なくとも約4倍の効率で標的核酸の少なくとも1つの塩基対を修飾してもよく；(ii)比較可能な非環状核酸よりも少なくとも約4倍長い半減期を保持してもよく；(iii)被験者に投与された比較可能な非環状核酸と比較して、被験者に投与された人工ガイドRNAの治療的有効量を少なくとも約4倍に減少させてもよく；または(iv)それらの任意の組み合わせでもよい。本開示の別の態様は、ベクターを提供する。いくつかの場合では、該ベクターは、人工ガイドRNAを含むことができる。いくつかの場合では、該ベクターは、リボソーム、ウイルスベクター、ナノ粒子、またはそれらの任意の組み合わせを含んでもよい。いくつかの場合では、該ベクター

10

20

30

40

50

は、AAVベクターであってもよい。いくつかの場合では、該ベクターは、DNAを含んでもよい。いくつかの場合では、該DNAは、二本鎖であってもよい。本開示の別の態様は、前記人工ガイドRNAをコードし得る核酸を提供する。いくつかの場合では、該核酸は、二本鎖であってもよい。本開示の別の態様は、前記人工ガイドRNAを含み得る単離された細胞を提供する。

【0007】

本開示の別の態様は、人工ガイドRNAを提供する。該人工ガイドRNAは、標的指向性ドメインを含んでもよい。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、標的ヌクレオチドの編集を行うRNA編集体をリクルートできるリクルートドメインを含むことができる。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、標的ヌクレオチドの編集を行うRNA編集体をリクルートできるリクルートドメインを含まなくてもよい。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシルを含まなくてもよい。本開示の別の態様は、ベクターを提供する。いくつかの場合では、該ベクターは、前記人工ガイドRNAを含んでもよい。いくつかの場合では、該ベクターは、リポソーム、ウイルスベクター、ナノ粒子、またはそれらの任意の組み合わせを含んでもよい。いくつかの場合では、該ベクターは、AAVベクターであってもよい。いくつかの場合では、該ベクターは、DNAを含んでもよい。いくつかの場合では、該DNAは、二本鎖であってもよい。本開示の別の態様は、人工ガイドRNAをコードし得る核酸を提供する。いくつかの場合では、該核酸は、二本鎖であってもよい。本開示の別の態様は、前記人工ガイドRNAを含み得る単離された細胞を提供する。

【0008】

本開示の別の態様は、人工ガイドRNAを提供する。該人工ガイドRNAは、標的指向性ドメインを含んでもよい。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、標的ヌクレオチドの編集を行うRNA編集体をリクルートできるリクルートドメインを含むことができる。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、標的ヌクレオチドの編集を行うRNA編集体をリクルートできるリクルートドメインを含まなくてもよい。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、ヒト細胞中に天然に存在するmRNAよりも加水分解の影響を受けにくい二次構造を含んでいてもよい。本開示の別の態様は、ベクターを提供する。いくつかの場合では、該ベクターは、前記人工ガイドRNAを含んでもよい。いくつかの場合では、該ベクターは、リポソーム、ウイルスベクター、ナノ粒子、またはそれらの任意の組み合わせを含んでもよい。いくつかの場合では、該ベクターは、AAVベクターであってもよい。いくつかの場合では、該ベクターは、DNAを含んでもよい。いくつかの場合では、該DNAは、二本鎖であってもよい。本開示の別の態様は、前記人工ガイドRNAをコードし得る核酸を提供する。いくつかの場合では、該核酸は、二本鎖であってもよい。本開示の別の態様は、前記人工ガイドRNAを含み得る単離された細胞を提供する。

【0009】

本開示の別の態様は、環状RNAを形成する方法を提供する。いくつかの場合では、該方法は、環状RNAを形成するために、人工ガイドRNAの2つ以上の末端間に直接的または間接的に共有連結を形成することを含んでもよい。該人工ガイドRNAは、標的指向性ドメインを含んでもよい。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、標的ヌクレオチドの編集を行うRNA編集体をリクルートできるリクルートドメインを含むことができる。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、標的ヌクレオチドの編集を行うRNA編集体をリクルートできるリクルートドメインを含まなくてもよい。いくつかの場合では、該方法は、共有連結を形成するために酵素を使用してもよい。

【0010】

本開示の別の態様は、前記人工ガイドRNAまたは前記ベクターを含む単位用量形態の医薬組成物を提供する。いくつかの場合では、該医薬組成物は、薬剤的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体を含んでもよい。いくつかの場合では、該医薬組成物は、修飾された伝達RNA(tRNA)を含んでもよい。いくつかの場合では、該修飾されたtRNAは、直交性のtRNAであってもよい。いくつかの場合では、該医薬組成物は、RNA編集体を含ん

でもよい。いくつかの場合では、該RNA編集体は、組換えRNA編集体であってもよい。いくつかの場合では、該RNA編集体は、前記人工ガイドRNAに直接的または間接的に連結されてもよい。いくつかの場合では、該RNA編集体と前記人工ガイドRNAとの間の結合は、共有連結であってもよい。

【0011】

本開示の別の態様は、本明細書に開示される人工ガイドRNA、本明細書に開示されるベクター、または本明細書に開示される医薬組成物、及び容器を含むキットを提供する。

【0012】

本開示の別の態様は、本明細書に開示される人工ガイドRNA、本明細書に開示されるベクター、または本明細書に開示された医薬組成物を含むキットを作製する方法、及びパッケージに包装する方法を提供する。

【0013】

本開示の別の態様は、被験者における疾患または状態を治療する方法を提供する。いくつかの場合では、該方法は、該被験者に前記人工ガイドRNA、前記ベクター、または前記医薬組成物を投与することを含んでもよい。いくつかの場合では、該方法は、該被験者に修飾された伝達RNA、RNA編集体、またはそれらの組み合わせを投与することを含んでもよい。いくつかの場合では、該修飾された伝達RNA、RNA編集体、またはそれらの組み合わせは、前記人工ガイドRNA、前記ベクター、または前記医薬組成物と同時に投与されてもよい。いくつかの場合では、該修飾された伝達RNA、RNA編集体、またはそれらの組み合わせは、前記人工ガイドRNA、前記ベクター、または前記医薬組成物に直接的または間接的に連結されてもよい。いくつかの場合では、前記人工ガイドRNA、前記ベクター、または前記医薬組成物への連結は、共有連結であってもよい。いくつかの場合では、前記投与は、静脈内注射、筋肉内注射、髄腔内注射、眼窩内注射、皮下注射、またはそれらの任意の組み合わせによって行ってもよい。いくつかの場合では、該方法は、該被験者に第2の治療薬を投与することを含んでもよい。いくつかの場合では、前記疾患または状態は、神経変性障害、筋肉障害、代謝障害、眼障害、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択されてもよい。いくつかの場合では、前記疾患または状態は、アルツハイマー病、筋ジストロフィー、網膜色素変性症、パーキンソン病、疼痛、スターガルト黄斑ジストロフィー、シャルコー・マリー・トゥース病、またはレット症候群であってもよい。いくつかの場合では、前記被験者は、哺乳動物であってもよい。いくつかの場合では、該哺乳動物は、ヒトであってもよい。いくつかの場合では、前記被験者は、診断法によって前記疾患または状態と診断されていてもよい。

【0014】

本開示の別の態様は、前記人工ガイドRNAを作製する方法を提供する。いくつかの場合では、該方法、前記人工ガイドRNAを遺伝的にコードするか、または前記人工ガイドRNAを化学的に合成することを含んでもよい。本開示の別の態様は、前記医薬組成物を製造する方法を提供する。いくつかの場合では、該方法、前記医薬組成物を単位用量形態で製剤化することを含んでもよい。

【0015】

本開示の別の態様は、前記人工ガイドRNAを作製する方法を提供する。いくつかの場合では、該方法は、環状RNAを形成するために、前記人工ガイドRNAの2つ以上の末端間に直接的または間接的に共有連結を形成することを含んでもよい。いくつかの場合では、該人工ガイドRNAは、切断体を用いて処理されてもよい。いくつかの場合では、該切断体は、リボザイムであってもよい。いくつかの場合では、該リボザイムは、RNase Pであってもよい。いくつかの場合では、該切断体は、tRNAであってもよい。いくつかの場合では、該方法、酵素をリクルートして、前記人工ガイドRNAの2つ以上の末端間に共有結合を形成することをさらに含んでもよい。

【0016】

本開示の別の態様は、前記人工ガイドRNAを作製する方法を提供する。いくつかの場合では、該方法、前記人工ガイドRNAの2つ以上の末端を連結要素で連結することを含ん

でもよい。いくつかの場合では、該連結要素は、クリックケミストリーを用いて、環状配列を形成してもよい。いくつかの場合では、該連結要素は、アジドに基づく連結であってもよい。

【0017】

本開示の別の態様は、環状ガイドRNA配列を形成するための構築物を提供する。いくつかの場合では、該構築物は、(a)環状化するためのガイドRNA配列、(b)連結配列、及び(c)リボザイムをコードするヌクレオチド配列を含んでもよい。いくつかの場合では、環状化するためのガイドRNA配列は、標的指向性ドメインを含むことができる。いくつかの場合では、環状化するためのガイドRNA配列は、RNA編集体リクルートドメインを含むことができる。いくつかの場合では、環状化するためのガイドRNA配列は、RNA編集体リクルートドメインを含まなくてもよい。いくつかの場合では、前記RNA編集体リクルートドメインは、Aluドメイン、APOBECリクルートドメイン、GluR2ドメイン、Cas13リクルートドメイン、またはそれらの任意の組み合わせを含んでもよい。いくつかの場合では、前記RNA編集体リクルートドメインは、配列番号1418または配列番号1419の少なくとも約400個のヌクレオチドに対して少なくとも約80%の配列相同性を含んでもよい。いくつかの場合では、前記RNA編集体リクルートドメインは、配列番号1418または配列番号1419に対して少なくとも約80%の配列相同性を含んでもよい。いくつかの場合では、前記ガイドRNA配列の5'末端または3'末端は、前記連結配列によって隣接されてもよい。いくつかの場合では、該連結配列の5'末端または3'末端は、リボザイムによって隣接されてもよい。いくつかの場合では、前記ヌクレオチド配列は、少なくとも2つのリボザイム、少なくとも2つの連結配列、またはそれらの組み合わせをコードしてもよい。

【0018】

本開示の別の態様は、環状RNA配列を形成するための構築物を提供する。いくつかの場合では、該構築物が、(a)環状化するためのRNA配列、(b)連結配列、及び(c)tRNAをコードするヌクレオチド配列を含んでもよい。いくつかの場合では、前記ガイドRNA配列の5'末端または3'末端は、前記連結配列によって隣接されてもよい。いくつかの場合では、前記連結配列の5'末端または3'末端は、tRNAによって隣接されてもよい。いくつかの場合では、前記ヌクレオチド配列は、少なくとも2つのリボザイム、少なくとも2つの連結配列、またはそれらの組み合わせをコードしてもよい。いくつかの場合では、前記人工ガイドRNAは、予め曲げられた環状RNA配列であってもよい。

【0019】

いくつかの態様では、本開示は、RNA配列中のヌクレオチドを編集するための人工ガイドRNAを提供する。該人工ガイドRNAが、RNA編集体リクルートドメインを含み、ここで、該RNA編集体リクルートドメインが、該人工ガイドRNAと結合した場合に該RNA配列中のヌクレオチドの塩基に対して化学変換を行うRNA編集体をリクルートし、それによって編集されたRNA配列を産生し、ここで、該人工ガイドRNAは、環状である。いくつかの実施形態では、該人工ガイドRNAは、標的指向性ドメインをさらに含む。いくつかの実施形態では、該標的指向性ドメインは、長さが約20個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含む。いくつかの実施形態では、該標的指向性ドメインは、長さが少なくとも約100個のヌクレオチドの配列長を含む。いくつかの実施形態では、前記塩基上の化学変換は、編集されたRNA配列の少なくとも部分的なノックダウンをもたらす。いくつかの実施形態では、該部分的なノックダウンは、該編集されたRNA配列から発現されるタンパク質またはその断片の低減されたレベルを含む。いくつかの実施形態では、該レベルの低減は、約5%~100%である。いくつかの実施形態では、該レベルの低減は、約60%~100%である。いくつかの実施形態では、前記化学変換は、センスコドン読み取りを停止コドンとしてもたらす。いくつかの実施形態では、前記化学変換は、停止コドン読み取りをセンスコドンとしてもたらす。いくつかの実施形態では、前記化学変換は、第1センスコドン読み取りを第2センスコドンとしてもたらす。いくつかの実施形態では、前記化学変換は、第1停止センスコドン読み取りを第2停止セン

スコドンとしてたらず。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAは、ステム-ループ、十字部、トウホールド、ミスマッチバルジ、またはそれらの任意の組み合わせを含む二次構造を形成するように構成することができる。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、Aluドメイン、APOBECリクルートドメイン、GluR2ドメイン、またはCas13リクルートドメインの少なくとも約20個の核酸に対して少なくとも約80%の配列相同性を含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、前記Aluドメインの少なくとも約20個の核酸に対して少なくとも約80%の配列相同性を含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、前記APOBECリクルートドメインの少なくとも約20個の核酸に対して少なくとも約80%の配列相同性を含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、前記APOBECリクルートドメインに対して少なくとも約80%の配列相同性を含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、Cas13aリクルートドメイン、Cas13bリクルートドメイン、Cas13cリクルートドメイン、またはCas13dリクルートドメインである前記Cas13リクルートドメインを含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、該Cas13bリクルートドメインの少なくとも約20個の核酸に対して少なくとも約80%の配列相同性を含む。いくつかの実施形態では、該配列は、該Cas13bリクルートドメインに対して少なくとも約80%の配列相同性を含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体は、内因性酵素である。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体は、組換え酵素である。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAは、修飾を含む。いくつかの実施形態では、該修飾は、糖修飾を含む。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAのヌクレオチドは、メチル基、フルオロ基、メトキシエチル基、エチル基、リン酸塩基、アミド基、エステル基、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAは、タンパク質コーティングを含む。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAは、遺伝的にコード可能である。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体は、前記人工ガイドRNAに連結される。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAと前記RNA編集体との間の連結は、直接的または間接的な共有連結である。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAは、生理的pHの水溶液において、比較可能な非環状ガイドRNAよりも少なくとも約4倍長い半減期を保持する。いくつかの実施形態では、必要とする被験者に投与された前記人工ガイドRNAの治療的有効量は、重量ベースで、比較可能な非環状ガイドRNAよりも少なくとも約4倍少ないである。

10

20

30

40

50

【0020】

いくつかの態様では、本開示は、RNA配列中のヌクレオチドを編集するための人工ガイドRNAを提供する。該人工ガイドRNAが、RNA編集体リクルートドメインを含み、ここで、該RNA編集体リクルートドメインが、該人工ガイドRNAと結合した場合、該RNA配列中のヌクレオチドの塩基に対して化学変換を行うRNA編集体をリクルートし、また、前記人工ガイドRNAが、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、溶媒に暴露され得る3'還元性ヒドロキシル、またはその両方を含まない。いくつかの態様では、本開示は、RNA配列中のヌクレオチドを編集するための人工ガイドRNAを提供する。該人工ガイドRNAが、RNA編集体リクルートドメインを含み、ここで、該RNA編集体リクルートドメインが、前記人工ガイドRNAと結合した場合、RNA配列中のヌクレオチドの塩基に対して化学変換を行い、それによって編集されたRNA配列を産生するRNA編集体をリクルートする。ここで、該人工ガイドRNAは、ヒト細胞中に天然に存在するmRNAよりも加水分解の影響を受けにくい二次構造を含む。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAは、標的指向性ドメインをさらに含む。いくつかの実施形態では、該標的指向性ドメインは、長さが約20個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含む。いくつかの実施形態では、該標的指向性ドメインは、長さが少なくとも約100個のヌクレオチドの配列長を含む。いくつかの実施形態では、前記塩基上の化学変換は、編集されたRNA配列の少なくとも部分的なノックダウンをもたらす。いくつかの実施形態

では、該少なくとも部分的なノックダウンは、該編集されたRNA配列から発現されるタンパク質またはその断片の低減されたレベルを含む。いくつかの実施形態では、該レベルの低減は、約5%~100%である。いくつかの実施形態では、該レベルの低減は、約60%~100%である。いくつかの実施形態では、前記化学変換は、停止コドンとして読み取られるセンスコドンを生じる。いくつかの実施形態では、前記化学変換は、センスコドン読み取りを停止コドンとしてもたらす。いくつかの実施形態では、前記化学変換は、停止コドン読み取りをセンスコドンとしてもたらす。いくつかの実施形態では、前記化学変換は、第1センスコドン読み取りを第2センスコドンとしてもたらす。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAは、予め曲げられた環状RNA配列である。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAは、曲げられていない環状RNA配列と比較して、低減されたエントロピーを含む。

10

【0021】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載の人工ガイドRNAのいずれかを含むベクターを提供する。いくつかの実施形態では、該ベクターは、リポソーム、ウイルスベクター、ナノ粒子、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、該ベクターは、ウイルスベクターであり、ここで、該ウイルスベクターがアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターである。いくつかの実施形態では、該ベクターは、DNAを含む。いくつかの実施形態では、該DNAは、二本鎖である。

【0022】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載の人工ガイドRNAのいずれかをコードする核酸を提供する。いくつかの実施形態では、該核酸は、二本鎖である。

20

【0023】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載の人工ガイドRNAのいずれか、本明細書に記載のベクターのいずれか、または本明細書に記載の核酸のいずれかを含む単離された細胞を提供する。

【0024】

いくつかの態様では、本開示は、環状RNAを形成する方法を提供し、該方法が、人工ガイドRNAを含む配列の2つ以上の末端間に共有連結を直接的または間接的に形成し、環状RNAを形成することを含み、ここで、該人工ガイドRNAが、RNA編集体リクルートドメインを含み、ここで、該RNA編集体リクルートドメインが、該人工ガイドRNAと結合した場合に該RNA配列中のヌクレオチドの塩基に対して化学変換を行うRNA編集体をリクルートし、それによって編集されたRNA配列を産生する。いくつかの実施形態では、該方法、前記共有連結を形成するために酵素を使用する。いくつかの実施形態では、該酵素は、リガーゼである。いくつかの実施形態では、該人工ガイドRNAは、標的指向性ドメインをさらに含む。いくつかの実施形態では、該標的指向性ドメインは、長さが約20個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含む。いくつかの実施形態では、該標的指向性ドメインは、長さが少なくとも約100個のヌクレオチドの配列長を含む。いくつかの実施形態では、前記塩基上の化学変換は、編集されたRNA配列の少なくとも部分的なノックダウンをもたらす。いくつかの実施形態では、該少なくとも部分的なノックダウンは、該編集されたRNA配列から発現されるタンパク質またはその断片の低減されたレベルを含む。いくつかの実施形態では、該レベルの低減は、約5%~100%である。いくつかの実施形態では、該レベルの低減は、約60%~100%である。いくつかの実施形態では、該部分的なノックダウンまたは該レベルの低減は、さもなければ *in vitro* アッセイにおいて測定された、同一の編集されていないRNA配列と比較して測定することができる。いくつかの実施形態では、前記化学変換は、センスコドン読み取りを停止コドンとしてもたらす。いくつかの実施形態では、前記化学変換は、停止コドン読み取りをセンスコドンとしてもたらす。いくつかの実施形態では、前記化学変換は、第1センスコドン読み取りを第2センスコドンとしてもたらす。

30

40

【0025】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載の人工ガイドRNAのいずれか、本明

50

細書に記載のベクターのいずれか、または本明細書に記載の核酸のいずれか、及び薬剤的に許容される賦形剤、希釈剤または担体を含む医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態では、該医薬組成物は、単位用量形態であり得る。いくつかの実施形態では、該組成物は、RNA編集体をさらに含む。いくつかの実施形態では、該RNA編集体は、組換えRNA編集体である。いくつかの実施形態では、該RNA編集体は、前記人工ガイドRNAに直接的または間接的に連結される。いくつかの実施形態では、該RNA編集体と前記人工ガイドRNAとの間の連結は、共有連結である。

【0026】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載の人工ガイドRNAのいずれか、本明細書に記載のベクターのいずれか、または本明細書に記載の医薬組成物のいずれかを、それを必要とする被験者に投与することを含む、該被験者を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、該方法は、修飾された伝達RNA、RNA編集体、またはそれらの組み合わせを、それを必要とする被験者に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、該修飾された伝達RNA、RNA編集体、またはそれらの組み合わせは、前記人工ガイドRNA、前記ベクター、または前記医薬組成物と同時投与される。いくつかの実施形態では、前記修飾された伝達RNA、RNA編集体、またはそれらの組み合わせは、前記人工ガイドRNA、前記ベクター、または前記医薬組成物に直接的または間接的に連結される。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNA、前記ベクター、または前記医薬組成物への連結は、共有連結である。いくつかの実施形態では、前記投与は、静脈内注射、筋肉内注射、髄腔内注射、眼窩内注射、皮下注射、またはそれらの任意の組み合わせによって行う。いくつかの実施形態では、該方法は、該被験者に第2の治療薬を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、該被験者は、神経変性障害、筋肉障害、代謝障害、眼障害、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される疾患または状態を有するか、または疑われる。いくつかの実施形態では、前記疾患または状態は、アルツハイマー病、筋ジストロフィー、網膜色素変性症、パーキンソン病、疼痛、スターガルト黄斑ジストロフィー、シャルコー・マリー・トゥース病、またはレット症候群である。いくつかの実施形態では、前記疾患または状態は、デュシェンヌ型の筋ジストロフィー(DMD)である。いくつかの実施形態では、前記被験者は、哺乳動物である。いくつかの実施形態では、該哺乳動物は、ヒトである。いくつかの実施形態では、前記被験者は、診断法により疾患または状態と診断されている。

【0027】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載の医薬組成物のいずれかを製造する方法を提供し、該方法が、該医薬組成物を単位用量形態で製剤化することを含む。

【0028】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載の人工ガイドRNAのいずれかを製造する方法を提供し、該方法が、該人工ガイドRNAを遺伝的にコードするか、または該人工ガイドRNAを化学的に合成することを含む。

【0029】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載の人工ガイドRNAのいずれかを製造する方法を提供し、該方法が、前記人工ガイドRNAの2つ以上の末端間に共有連結を直接的または間接的に形成して環状RNAを形成することを含み、ここで、該人工ガイドRNAは、自己切断体を用いて処理される。いくつかの実施形態では、該自己切断体は、リボザイムである。いくつかの実施形態では、該リボザイムは、RNase Pである。いくつかの実施形態では、該自己切断体は、tRNAである。いくつかの実施形態では、該自己切断体は、アプタマーまたはその触媒的活性断片である。いくつかの実施形態では、該方法は、前記人工ガイドRNAの2つ以上の末端間に共有結合を形成するために酵素をリクルートすることをさらに含む。

【0030】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載の人工ガイドRNAのいずれかを製造する方法を提供し、該方法が、連結要素を用いて、前記人工ガイドRNAの2つ以上の末端

を連結することを含む。いくつかの実施形態では、該連結要素は、環状配列を形成するためにクリックケミストリーを用いる。いくつかの実施形態では、該連結要素は、アジドに基づく連結である。

【0031】

いくつかの態様では、本開示は、環状ガイドRNA配列を形成するための構築物を提供し、該構築物が、(a)環状化するためのガイドRNA配列、(b)連結配列、及び(c)リボザイムをコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAは、RNA編集体リクルートドメインをさらに含むことができる。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAは、該RNA編集体リクルートドメインを含まなくてもよい。いくつかの実施形態では、前記人工ガイドRNAは、標的指向性ドメインをさらに含む。いくつかの実施形態では、該標的指向性ドメインは、長さが約20個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含む。いくつかの実施形態では、該標的指向性ドメインは、長さが少なくとも約100個のヌクレオチドの配列長を含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、Aluドメイン、APOBECリクルートドメイン、GluR2ドメイン、Cas13リクルートドメイン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、配列番号1418または配列番号1419の少なくとも約400個のヌクレオチドに対して少なくとも約80%の配列相同性を含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、配列番号1418または配列番号1419に対して少なくとも約80%の配列相同性を含む。いくつかの実施形態では、前記ガイドRNA配列の5'末端または3'末端は、前記連結配列によって隣接される。いくつかの実施形態では、該連結配列の5'末端または3'末端は、前記リボザイムによって隣接される。いくつかの実施形態では、前記ヌクレオチド配列は、少なくとも2つのリボザイム、少なくとも2つの連結配列、またはそれらの組み合わせをコードする。いくつかの実施形態では、前記ヌクレオチド配列は、表1~12中のいずれかのポリヌクレオチドに対して少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または約100%の配列相同性を有する配列を含む。

【0032】

いくつかの態様では、本開示は、環状RNA配列を形成するための構築物を提供し、該構築物が、(a)環状化するためのRNA配列、(b)連結配列、及び(c)tRNAをコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、前記ガイドRNA配列の5'末端または3'末端は、前記連結配列によって隣接され、該連結配列の5'末端または3'末端は、前記tRNAによって隣接される。いくつかの実施形態では、前記ヌクレオチド配列は、少なくとも2つのリボザイム、少なくとも2つの連結配列、またはそれらの組み合わせをコードする。

【0033】

いくつかの態様では、本開示は、環状RNA配列を形成するための構築物を提供し、該構築物が、(a)環状化するためのRNA配列、(b)連結配列、及び(c)アプタマーまたはその触媒的活性断片をコードするヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、前記ガイドRNA配列の5'末端または3'末端は、前記連結配列によって隣接され、該連結配列の5'末端または3'末端は、前記アプタマーまたはその触媒的活性断片によって隣接される。いくつかの実施形態では、前記ヌクレオチド配列は、少なくとも2つのリボザイム、少なくとも2つの連結配列、またはそれらの組み合わせをコードする。

【0034】

いくつかの態様では、本開示は、標的RNAに少なくとも部分的に相補的である標的指向性ドメインを含む人工ポリヌクレオチドを提供し、ここで、該人工ポリヌクレオチドが、式(I)の構造を含む：

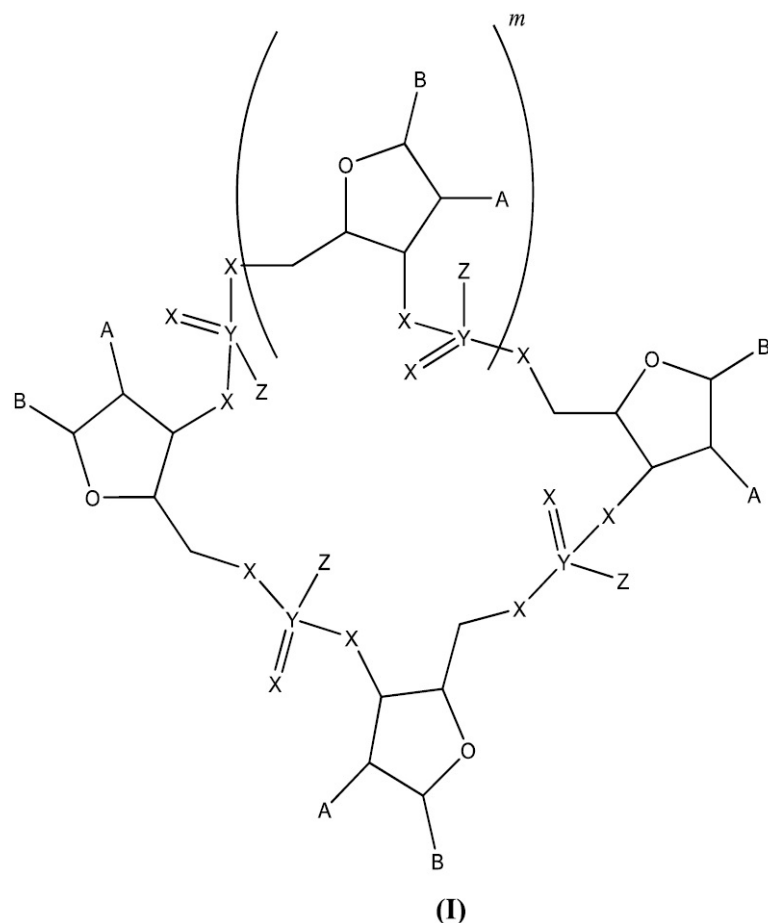
10

20

30

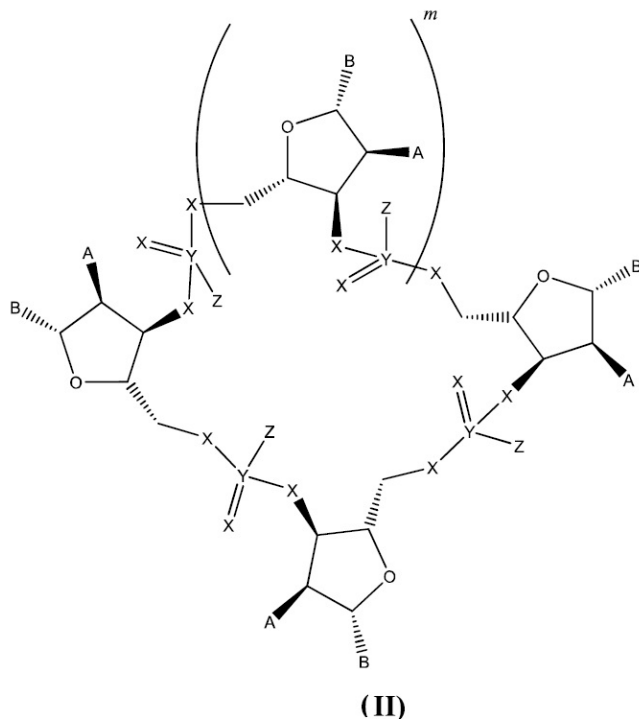
40

50



(I)

式中、各Xは、Oであり；各Yは、Pであり；各Zは、OまたはSであり；各Aは、独立してH、D、ハロゲン、OM、SM、NRM、またはNRR'であり；各Bは、独立してウラシル、チミン、アデニン、シトシン、グアニン、これらのいずれかの塩、またはこれらのいずれかの誘導体であり；各Mは、独立して無機または有機の陽イオン、HまたはDであり；そして各R及びR'は、独立してH、D、ハロゲン、またはC₁-C₆アルキルであり；Mは、独立して0～1,000の整数である。ここで、前記標的指向性ドメインは、前記標的RNAのコード領域と少なくとも部分的に結合するように構成され、かつ、該標的指向性ドメインと該標的RNAのコード領域との結合は、RNA編集体による該標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集を促進する。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体による標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集は、(i)前記標的RNAを初代細胞株に直接的または間接的に導入すること、(ii)前記人工ポリヌクレオチドを該初代細胞株に直接的または間接的に導入すること、及び(iii)該標的RNAを配列決定することを含むin vitroアッセイにおいて決定される。いくつかの実施形態では、各ユニットmは、独立して(D)-または(L)-配置である。いくつかの実施形態では、式(I)は、式(II)による。



10

20

30

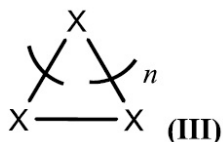
40

50

いくつかの実施形態では、各Zは、Oであり、各Rは、Hである。いくつかの実施形態では、mは、約30～600の独立した整数である。いくつかの実施形態では、少なくとも部分的に相補的であるのは、前記標的RNAに対する逆補体に対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含む標的指向性ドメインを含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体は、ADARタンパク質、APOBECタンパク質、またはその両方を含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体は、ADARを含み、該ADARが、ADAR1またはADAR2を含む。いくつかの実施形態では、前記塩基の編集は、センスコドンを変換する。いくつかの実施形態では、前記塩基の編集は、停止コドンを変換する。いくつかの実施形態では、前記塩基の編集は、第1センスコドンを第2センスコドンに変換する。いくつかの実施形態では、前記塩基の編集は、第1アミノ酸を特定するセンスコドンを、第2アミノ酸を特定する第2センスコドンに変換する。いくつかの実施形態では、該第1アミノ酸は、プロテアーゼ切断部位である。

【0035】

いくつかの態様では、本開示は、標的RNAに少なくとも部分的に相補的である標的指向性ドメインを含む人工ポリヌクレオチドを提供し、該人工ポリヌクレオチドが、式(III)の構造を含む：



該人工ポリヌクレオチドにおいて、各Xは、独立してウラシル、チミン、アデニン、シトシン、グアニン、これらのいずれかの塩、またはこれらのいずれかの誘導体を含むヌクレオチドであり；nは、独立して0～1,000の整数であり；各ヌクレオチドは、各連結に対して独立してホスホエステル、ホスホチオエステル、ホスホチオエート、またはホスホアミダイト連結によって隣接する2個のヌクレオチドに連結され；前記標的指向性ドメインは、前記標的RNAのコード領域と少なくとも部分的に結合するように構成され；該標的指向性ドメインと該標的RNAのコード領域との結合は、RNA編集体による標的RNAの

ヌクレオチドの塩基の編集を促進する。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体による標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集は、(i)前記標的RNAを初代細胞株に直接的または間接的に導入すること、(ii)該人工ポリヌクレオチドを該初代細胞株に直接的または間接的に導入すること、及び(iii)該標的RNAを配列決定することを含むin vitroアッセイにおいて決定される。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体は、ADARタンパク質、APOBECタンパク質、またはその両方を含む。いくつかの実施形態では、前記RNA編集体は、ADARを含み、該ADARが、ADAR1またはADAR2を含む。いくつかの実施形態では、前記初代細胞株は、ニューロン細胞、光受容体細胞、網膜色素上皮細胞、グリア細胞、筋芽細胞、筋管細胞、肝細胞、肺上皮細胞、または線維芽細胞を含む。いくつかの実施形態では、前記人工ポリヌクレオチドは、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、3'還元性ヒドロキシル、またはその両方を含まない。いくつかの実施形態では、各5'ヒドロキシル及び各3'ヒドロキシルは、独立して共有酸素リン結合によってリンに結合される。いくつかの実施形態では、前記リンは、ホスホジエステル基に含まれる。いくつかの実施形態では、前記人工ポリヌクレオチドは、RNA編集体リクルートドメインをさらに含む。いくつかの実施形態では、前記標的指向性ドメインは、約20個のヌクレオチドから約150個のヌクレオチドまでである。いくつかの実施形態では、前記標的RNAは、ナンセンス変異を含む。いくつかの実施形態では、前記標的指向性ドメインは、前記標的RNAに対してミスマッチされた少なくとも1つの単一ヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、該ミスマッチされたヌクレオチドは、前記標的RNAに相補的な2個のヌクレオチド（該ミスマッチされたヌクレオチドの各側に1つずつ）に隣接している。いくつかの実施形態では、前記標的指向性ドメインは、疾患または状態で実施される標的RNAに少なくとも部分的に結合する。いくつかの実施形態では、該疾患または状態は、レット症候群、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、筋ジストロフィー、またはテイ・サックス病を含む。いくつかの実施形態では、塩基の編集は、前記塩基の編集による標的RNAの翻訳後、さもないれば該編集を欠く比較可能な標的RNAの翻訳されたタンパク質と比較して、タンパク質またはその断片のレベルの増加、タンパク質またはその断片の長さの増加、タンパク質またはその断片の機能の増強、タンパク質またはその断片の安定性の向上、またはこれらの任意の組み合わせをもたらす。いくつかの実施形態では、該レベルの増加は、約5%～約100%である。いくつかの実施形態では、該長さの増加は、前記タンパク質またはその断片の約5%～約100%である。いくつかの実施形態では、該安定性の向上は、前記タンパク質またはその断片の半減期の延長である。いくつかの実施形態では、前記人工ポリヌクレオチドは、表1～12中のいずれかのポリヌクレオチドに対して少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または約100%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、前記人工ポリヌクレオチドは、表1～12中のいずれかのポリヌクレオチドの配列長の少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または約100%の長さを有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、前記人工ポリヌクレオチドは、表1～12中のいずれかのポリヌクレオチドに対して少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または約100%の配列相同性、かつ、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または約100%の配列長を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【0036】

いくつかの態様では、本開示は、標的RNAに少なくとも部分的に相補的である標的指向性ドメインを含む人工ガイドRNAを提供する。ここで、該人工ガイドRNAが、互いに共有連結した複数の糖及びリン酸塩部分を含む骨格を含み、該骨格が、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、3'還元性ヒドロキシル、またはその両方を含まない。ここで、前記標的指向性ドメインは、前記標的RNAのコード領域と少なくとも部分的に結合す

10

20

30

40

50

るように構成され、前記標的指向性ドメインと前記標的RNAのコード領域との結合は、RNA編集体による該標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集を促進する。

【0037】

いくつかの態様では、本開示は、標的RNAに少なくとも部分的に相補的な標的指向性ドメインを含むことができる人工ガイドRNAを提供する。いくつかの場合では、人工ガイドRNAは、RNA編集体リクルートドメインをさらに含むことができ、ここで、該RNA編集体リクルートドメインが、RNA編集体と少なくとも一時的に結合するように構成される。いくつかの場合では、人工ガイドRNAは、RNA編集体リクルートドメインを含まなくてもよい。いくつかの場合では、前記人工ガイドRNAは、互いに共有連結された複数の糖及びリン酸塩部分を含む骨格を含むことができ、該骨格が、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、3'還元性ヒドロキシル、またはその両方を含まない。ここで、前記標的指向性ドメインは、前記標的RNAのコード領域と少なくとも部分的に結合するように構成され、前記標的指向性ドメインと前記標的RNAのコード領域との結合は、RNA編集体による該標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集を促進する。いくつかの実施形態では、少なくとも部分的に相補であるのは、前記標的RNAに対する逆補体に対して少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、または少なくとも約95%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含む標的指向性ドメインを含む。いくつかの実施形態では、RNA編集体による前記標的RNAのヌクレオチドの塩基の編集は、(i)前記標的RNAを初代細胞株に遺伝子導入すること、(ii)該人工ポリヌクレオチドを初代細胞株に遺伝子導入すること、及び(iii)該標的RNAを配列決定することを含むin vitroアッセイにおいて決定される。

【0038】

本開示は、一般構造：-(アプタマー)-(RNA編集体リクルートドメイン)-(RNA標的指向性ドメイン)-(任意のRNA編集体リクルートドメイン)-(アプタマー)-の人工環状ガイドRNAを提供する。いくつかの場合では、該人工環状ガイドRNAは、RNA編集体リクルートドメインを含まなく（欠如し）てもよい。一実施形態では、前記アプタマーは、連結に適したアプタマーを含み、それにより、人工環状ガイドRNAのいずれかの末端上のアプタマーが互いに連結され、それによって環状構築物を形成する。該アプタマーは、内因性リガーゼまたは組換え的に提供されたリガーゼを用いて連結することができる。別の実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、内因性RNA編集体をリクルートすることができる、または組換え的に提供されたRNA編集体をリクルートすることができる。一実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、Aluドメイン、APOBECリクルートドメイン、GluR2ドメイン、Cas13ドメイン、及び前記のいずれかの機能性断片から選択することができる。別の実施形態では、前記RNA編集体リクルートドメインは、APOBECタンパク質（例えば、APOBEC1、APOBEC2、APOBEC3A、APOBEC3B、APOBEC3C、APOBEC3E、APOBEC3F、APOBEC3G、APOBEC3H、またはAPOBEC4タンパク質）またはADARタンパク質（例えば、ADAR1、ADAR2、またはADAR3タンパク質）から選択することができる。一実施形態では、環状ガイドRNAは、2つのRNA編集体リクルートドメインを含む。さらなる実施形態では、該2つのRNA編集体リクルートドメインは、RNA標的指向性ドメイン（前記RNA標的指向性ドメインの5'末端に1つ、また、その3'末端に1つ）に隣接している。別の実施形態では、該RNA標的指向性ドメインは、修飾されるべき塩基を除いて、編集されるべき標的RNA配列に相補的である。別の実施形態では、該RNA標的指向性ドメインは、複数のミスマッチ塩基を含み、その一つは、化学的に修飾されるべき標的塩基であり、他のものは、ハイパー編集を受けやすいミスマッチ塩基である。一実施形態では、前記RNA標的指向性ドメインの標的ミスマッチ塩基対は、前記標的RNA配列のRNA編集体による化学修飾の部位である。一実施形態では、上記の実施形態に記載されているような人工環状ガイドRNAは、組換えポリヌクレオチドによってコードされる。さらなる実施形態では、ベクターは、組換えポリヌクレオチドを含むことができる。

【図面の簡単な説明】

10

20

30

40

50

【0039】

本開示の原理を含む例示的な実施形態を記載する以下の詳細な説明及び以下の添付図面を参照して、本開示の特徴や利点をより良く理解するであろう。

【0040】

【図1A-C】環状ガイドRNAの構築物設計例及び環状ガイドRNAの作製方法を示す。

【0041】

【図2】環状ガイドRNAを形成する場合にのみPCR増幅産物を有するアガロースゲルを示す。Alu 100-50ガイドを含むウェルは、増幅産物のバンドを示す。

【0042】

【図3A】Alu-v2-環状構築物の配列例（例えば、環状化されたAlu 60-30 R7Aガイド及び環状化されたAlu 100-50 R7Aガイド）を示す。

10

【0043】

【図3B】内因性ADARのリクルートを改善するための環状adRNA設計を示す。編集誘導要素(EIE)またはAlu要素は、F30接合点を介して該環状adRNAに添加される。

【0044】

【図4】通常のルシフェラーゼ発現をもたらすリボソームのリードスルーを可能にするための、ADARリクルートの有無の2つの異なるシナリオを用いたRNA編集のルシフェラーゼアッセイ概略図を示す。

【0045】

【図5】mRNAを標的とするために曲げられた及び曲げられていない環状adRNAの例を示す。

20

【0046】

【図6】外因性ADAR酵素を添加し、または添加せずにRNA編集により細胞中のルシフェラーゼ活性を回復させるために、種々の長さの環状adRNAの能力を示す相対光単位の棒グラフを示す。

【0047】

【図7】種々の長さの環状adRNAからアガロースゲル中の増幅バンドを示す。adRNAを逆転写酵素(RT)-PCRで増幅し、adRNAを細胞内で環状化したことを確認した。

【0048】

【図8】ADAR酵素の過剰発現の有無で、環状adRNAの構築に利用されうる異なる編集されたmRNA構築物の百分率の棒グラフを示す。さらに、図8は、ADARによるRNA編集のためのCミスマッチを含むアンチセンスドメインを有するAlu要素構築物の概略も示す。

30

【0049】

【図9A-E】種々の構築物の比較及び本開示の構築物を用いて得られたデータを示す。(A)種々のadRNA設計を用いたRAB7A転写物の3'UTRで得られたRNA編集効率の比較。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。(B)adRNA環状化の確認、(C)種々のadRNA設計を用いた遺伝子導入の2~4日後に得られたRNA編集効率。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。(D) cluc転写物のRNA編集に影響を与えるadRNAの能力は、ADAR1を標的とするsiRNAの存在下で評価される。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。(E) ADAR1のsiRNAベースのノックダウン。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。全ての実験は、HEK293FT細胞で行った。

40

【0050】

【図10A-C】環状ガイドRNAの結果及び効率を示す。(A)プラスミド遺伝子導入の2日後に観察された種々の転写物のCDSにおけるRNA編集効率。値は、平均(n=2)を表す。(B)RAB7A転写物の3'UTRで遺伝子導入の1日後にIVT環状adRNA及びプラスミド送達(U6転写)環状adRNAを介して観察されたRNA編集効率。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。(C)IVT adRNA及びプラスミド送達(U6転写)環状adRNAの環状化確認。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。

【0051】

50

【図11A-B】本開示の構築物の編集効率及び発現を示す。(A)マウス肝臓におけるAAV8に一括されたU6転写された環状の長アンチセンスRNAの全身送達を介したin vivoでのRNA編集効率。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。(B)circ adRNAの相対発現レベル。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。

【0052】

【図12A-C】Alu及びadRNAの設計及びそれらの編集されたmRNA活性を示す。(A)Alu要素及び該Alu要素から設計された3つのadRNA設計の概略図。(B)Alu-adRNAの内因性及び外因性ADARをリクルートする能力についてアッセイを行う。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。(C)Alu-v2設計によるアンチセンスドメイン評価。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。全ての実験は、HEK293FT細胞で行った。

10

【0053】

【図13A-B】(A)Alu要素及び該Alu要素から設計された3つのadRNA設計の概略図を示す。(B)Alu-adRNAの内因性及び外因性ADARをリクルートする能力についてアッセイを行う。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。(C)Alu-v2設計によるアンチセンスドメイン評価。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。全ての実験は、HEK293FT細胞で行った。

【0054】

【図14A-B】(A)標的部位(大きい矢印で強調された)周囲のRAB7A cDNAの試料トレースを示す。小さい矢印は、非特異的なアデノシンの編集を指す。(B)環状adRNAの直鎖形態は、T7ポリメラーゼを用いてin vitroで転写され、LiClを用いて精製され、そしてそれらがリガーゼによって環状化される細胞に遺伝子導入される。

20

【0055】

【図15A-F】(A)マウス肝臓におけるAAV8に一括されたU6転写された直鎖状及び環状の長アンチセンスRNAの全身送達を介したin vivoでのRNA編集効率を示す。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。(B)AAV8またはPBSを注射されたマウスの種々の群におけるcirc adRNA、(C)GFP、及び(D)ヒトADAR2の相対発現レベル。adRNAのみを送達するAAVベクターもGFPを含む。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。(E)AAV8またはPBSを注射されたマウスの種々の群におけるPCSK9発現レベル。値は、平均 $\pm$ SEM (n=3)を表す。(F)SI図4aのプロットに対応する環状adRNAで観察されたハイパー編集を示すヒートマップ。矢印は、標的アデノシンを示す。

30

【0056】

【図16】各長アンチセンスadRNA構築物で観察されたトランスクリプトーム-ワイドAからGへの編集収率(y軸)を対照試料で観察された収率(x軸)と比較する2D柱状図を提供する。各柱状図は、読み取りカバレッジは少なくとも10であり、かつ、少なくとも1つの試料で少なくとも1つの推定編集事象が検出された同じセットの参照部位を表す。強調表示された配列群は、対照試料を処理した場合と比較したとき、AからGへの編集収率が有意に変化した部位を含む。各プロットにおけるX印は、調節されたP値が最も小さい100箇所の部位を示す。左上から時計回りで、環状100,50及び0,100,50。

【0057】

【図17A-D】ハイパー編集を減少させるための環状adRNAアンチセンス設計を示す。下の鎖は、アンチセンスドメインを表し、一方、上の鎖は、標的mRNAである。該標的アデノシンは、ミスマッチの反対に示されている。(A)サイズ6~12 bpのループは、該領域内に位置する標的アデノシンと30~40 bp離れて形成される。(B)単一bpのバルジは、...-34、-24、-14、-10、0、10、14、24、34...のパターンで該アンチセンス全体に形成される。(C)単一bpのバルジは、...-30、-20、-10、0、10、20、30...のパターンで該アンチセンス全体に形成される。(D)バルジは、グアノシンをハイパー編集されたアデノシンの反対側に配置することによって形成される。

40

【詳細な説明】

【0058】

本明細書及び添付の請求項で使用されるように、単数形"1つ"及び"該"は、文脈中に明

50

記されない限り、複数の参照物を含む。従って、例えば、"1つの細胞"を参照することは、複数のこのような細胞を含み、また、"該断片"を参照することは、当業者に公知の1つ以上の断片及びその等価物を参照することを含む。

【0059】

また、"または"の使用は、特に明記されていない限り、"及び/または"を意味する。同様に、"含む"、"含んでいる"、"包含する"、及び"包含している"、は交換可能であり、限定することを意図するものではない。

【0060】

理解されることとして、様々な実施形態の記述が、用語"含む"を使用する場合、様々な実施形態の説明が"含む"という用語を使用する場合、当業者は、いくつかの特定の例において、実施形態が"本質的にからなる"または"からなる"という言葉を使用して代替的に説明され得ることを理解するであろう。

【0061】

特に限定されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本開示が属する分野の当業者に一般的に理解されるものと同じ意味を有する。多くの方法及び試薬は、本明細書に記載された方法と類似または同等であるが、例示的な方法及び材料が本明細書に開示されている。

【0062】

本明細書に記載されている全ての刊行物は、本明細書の記載と関連して使用され得る方法論を記載し、開示する目的のために、本明細書に完全に組み込まれる。さらに、本明細書に明示的に定義されている用語と類似または同一である1つ以上の刊行物に提示される任意の用語に関して、本明細書に明示的に提供される用語の定義は、全ての点で制御するであろう。

【0063】

理解されるべきこととして、本開示は、本明細書に記載される特定の方法論、プロトコル、及び試薬等に限定されず、従って、変化しうる。本明細書で使用される用語は、特定の実施形態または態様を説明するためのものであり、本開示の範囲を限定することを意図するものではない。

【0064】

実施例、または他に示された場合を除いて、本明細書で使用される成分の量または反応条件を表す全ての数字は、全ての場合において"約"という用語によって変更されると理解されるべきである。本発明を説明するために使用される場合の"約"という用語は、百分率に関連して、 $\pm 1\%$ を意味する。本明細書で使用される"約"という用語は、当技術分野の通常の技術の1つによって測定される特定の値の許容可能な誤差範囲内を意味することができ、これは、値の測定または測定方法、例えば測定システムの制限に部分的に依存しうる。あるいは、"約"は、所定値のプラスまたはマイナス20%、プラスまたはマイナス10%、プラスまたはマイナス5%、またはプラスまたはマイナス1%の範囲を意味することができる。あるいは、特に、生物学的システムまたはプロセスに関して、該用語は、桁違い、値の5倍以内または2倍以内を意味することができる。本願及び請求項に特定の値が記載されている場合には、特に断らない限り、特定の値の許容誤差範囲内を意味する"約"という用語を想定することができる。また、値の範囲及び/またはサブ範囲が提供される場合、該範囲及び/またはサブ範囲は、該範囲及び/またはサブ範囲の終点を含むことができる。いくつかの場合では、変動には、特定の量の20%、10%、5%、1%、0.5%、または0.1%の量または濃度が含まれる場合がある

【0065】

本明細書における数値範囲の列挙については、同じ程度の精度でその間にある各数値が明示的に考えられる。例えば、6~9の範囲では、6及び9に加えて、数値7及び8が考えられ、また、6.0~7.0の範囲では、数値6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9及び7.0が明示的に考えられる。

【0066】

10

20

30

40

50

本明細書で使用されるように、用語"アデニン"、"グアニン"、"シトシン"、"チミン"、"ウラシル"、及び"ヒポキサンチン"(イノシン中の核酸塩基)は、そのような核酸塩基を指す。

【0067】

用語"アデノシン"、"グアノシン"、"シチジン"、"チミジン"、"ウリジン"、及び"イノシン"は、(デオキシ)リボシル糖に連結された核酸塩基を指す。

【0068】

本明細書で使用されるように、用語"アデノ随伴ウイルス"または"AAV"は、該名称に関連し、Parvoviridae科のdependoparvovirus属に属するウイルスのクラスの一員を指す。該ウイルスの複数の血清型は、遺伝子送達に適していることが知られており、全ての既知の血清型は、様々な組織型から細胞を感染させることができる。連番された少なくとも11種は、先行技術において開示されている。本明細書に開示される目的に有用な非限定的な例示的な血清型は、該11種の血清型のいずれかを含み、例えばAAV2及びAAV8。本明細書中で使用されるように、用語"レンチウイルス"は、該名称に関連し、Retroviridae科のlentivirus属に属するウイルスのクラスの一員を指す。いくつかのレンチウイルスは疾患を引き起こすことが知られているが、他のレンチウイルスは、遺伝子送達に適していることが知られている。例えば、Tomasら(2013)生化学、遺伝学及び分子生物学："遺伝子治療-ツール及び潜在的な応用"、ISBN 978-953-51-1014-9、DOI：10.5772/52534を参照されたい。

【0069】

本明細書中で使用されるように、用語"RNA上に作用するアデノシンデアミナーゼ"または"ADAR"は、アデノウイルス(A)をRNA配列中のイノシン(I)に変換できるアデノシンデアミナーゼを指す。ADAR1及びADAR2は、in vivoでのmRNAの編集に関与するADARの2つの例示的な種である。非限定的なADAR1の配列例は、次の参照番号で見出すことができる：HGNC:225;Entrez Gene:103;Ensembl:ENSG 00000160710;OMIM:146920;UniProtKB:P55265;及びGeneCards:GC01M154554、並びにそれらの生物学的等価物。非限定的なADAR2の配列例は、次の参照番号で見出すことができる：HGNC:226;Entrez Gene:104;Ensembl:ENSG00000197381;OMIM:601218;UniProtKB:P78563;及びGeneCards:GC21P045073、並びにそれらの生物学的等価物。関連の相同分子種及び相同体は、当業者に利用可能な種々の配列検索ツール及びデータベースを用いて容易に同定されるであろう。

【0070】

用語"adRNA"は、ADARをリクルートするRNAを表し、部位特異的なADAR編集を方向づけるために使用される順方向及び逆方向RNAを指すことができる。いくつかの例では、ADARをリクルートする順方向RNAを"adRNA"と称し、一方、ADARをリクルートする逆方向RNAを"radRNA"と称する。

【0071】

用語"Aluドメイン"は、Alu転移要素から得られた配列を指すことができる。いくつかの場合では、該Alu要素の長さは、約300の塩基対であり得る。Alu要素は、典型的に十字部-ポリA5-TAC-ポリA6-十字部-ポリA尾部の構造を含み、ここで、両方の十字部ドメインのヌクレオチド配列が類似している。"Aluドメイン"は、該Alu要素の十字形部分を含むことができる。いくつかの実施形態では、十字部構造を含む2つのAluドメインは、標的RNA配列に相補的な配列によって連結される。

【0072】

本明細書で使用されるように、用語"APOBEC"は、mRNA編集に関与する進化的に保存されたシチジンデアミナーゼのファミリーに含まれる任意のタンパク質(CからUへの変換として解釈できるCからTへの編集を触媒する)及びその同価物を指すことができる。いくつかの態様では、用語APOBECは、APOBEC1、APOBEC2、APOBEC3A、APOBEC3B、APOBEC3C、APOBEC3E、APOBEC3F、APOBEC3G、APOBEC3H、APOBEC4、またはそれらの等価物のいずれかを指すことができる。1つ以上のAPOBECドメ

インを含む融合タンパク質の非限定的な配列例は、ADARドメインに融合され、またはRNA編集システムでの使用に適合するように代替のドメインに融合されて、本明細書で提供される。該目的のために、APOBECは、異なる変換による編集アルバイトを触媒するADARの等価物と考えられる。従って、理論に拘束されないが、ADARに基づく編集システムで使用するために本明細書で企図される全ての実施形態は、APOBECに基づくRNA編集システムでの使用に適合させることができると考えられている。いくつかの場合では、APOBECの使用は、特定の修飾を含むことができ、例えば、これに限定されないが、酵素をリクルートするための特定のガイドRNAまたは"gRNA"（環状gRNAを含む）の使用。

【0073】

用語"接触"は、2つ以上の体間の直接的または間接的な結合または相互作用を意味することができる。直接的な相互作用の例は、結合である。間接的な相互作用の例は、1つの体が中間分子に作用し、それが次に第2の参照体に作用する場合である。本明細書で使用されるように、接触は、溶液中、固相中、in vitro、ex vivo、細胞中、及びin vivoでの接触を含む。一実施形態では、接触は、ガイドRNAとRNA編集体との間で起こり得る。in vivoでの接触は、投与することまたは投与と呼ぶことができる。

【0074】

本明細書で使用されるように、用語"欠失"は、特定の薬剤の正常(生理的に許容される)レベルよりも低いことを指すことができる。タンパク質の文脈において、欠失は、全長タンパク質の正常レベルよりも低いことを指すことができる。

【0075】

本明細書で使用されるように、用語"ドメイン"は、ドメインがより大きな構築物に含まれるか、その一部であるような、より大きな構築物の特定の領域を指す。核酸に関して、ドメインは、多数のコーディング配列を含むより大きな構築物中に見出されるコード配列を指すことができる。

【0076】

ポリヌクレオチドに適用されるように、用語"コードする"は、その天然状態において、または当業者に周知の方法で操作された場合、ポリペプチドをコードすると言われ、転写及び/または翻訳され、ポリペプチドのmRNA及び/またはその断片を産生できるポリヌクレオチドを指すことができる。アンチセンス鎖は、そのような核酸の相補体であり、それからコード配列を推定することができる。

【0077】

"人工ポリヌクレオチド"または"人工ガイドRNA"は、環状ガイドRNAと交換可能に使用される。人工ポリヌクレオチドは、DNA、RNA、またはハイブリッドDNA/RNA構築物の組換えポリヌクレオチドを含むことができる。該人工ポリヌクレオチドは、ガイドRNAを生じさせることができ、より具体的には、環状ガイドRNAを生じさせることができる。人工ポリヌクレオチドの構造例は、式I、II及びIIIに示されている。

【0078】

用語"等価物"または"生物学的等価物"は、所望の構造または機能性を維持しながら、最小限の相同性を有する特定の分子、生物学的または細胞材料を指す場合、交換可能に使用される。

【0079】

本明細書で使用されるように、"発現"は、ポリヌクレオチドがmRNAに転写されるプロセス及び/または転写されたmRNAが続いてペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質に翻訳されるプロセスを指すことができる。ポリヌクレオチドがゲノムDNAから誘導される場合、発現は、真核細胞におけるmRNAのスプライシングを含むことができる。

【0080】

"相同性"、"同一性"または"類似性"は、2つのペプチド間または2つの核酸分子間の配列類似性を指すことができる。相同性は、比較のために整列され得る各配列内の位置を比較することで測定できる。例えば、比較した配列の位置が同一の塩基またはアミノ酸で占

10

20

30

40

50

められている場合、該位置で分子が相同である。配列間の相同性の程度は、該配列によって共有される一致または相同位置の数の関数である。"無関係の"または"非相同の"配列は、本開示の配列の1つと40%未満の同一性、あるいは25%未満の同一性を共有する。

【0081】

相同性は、参照配列と百分率(%)の配列同一性を指すことができる。実際問題として、特定の配列が、本明細書に記載の任意の配列(これは、本明細書に記載の特定の核酸配列に対応し得る)に対して少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、92%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であろうと、このような特定のペプチド、ポリペプチド、または核酸の配列は、従来公知のコンピュータプログラム、例えば、Bestfitプログラム(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711)を用いて測定することができる。Bestfitまたは任意の他の配列整列プログラムを用いて、特定の配列が参照配列と例えば95%同一であるかどうかを測定する場合、同一性百分率が参照配列の全長にわたって計算され、全参照配列の5%までの同一性のギャップが許容されるようにパラメータを設定することができる。

【0082】

例えば、特定の実施形態では、参照配列(問い合わせ配列、即ち、本開示の配列)と、グローバル配列整列とも呼ばれる対象配列との間の同一性は、Brutlagらのアルゴリズム(Comp.App.Biosci.6:237-245(1990))に基づくFASTDBコンピュータプログラムを用いて測定できる。いくつかの場合では、同一性が狭く構築された特定の実施形態のための、FASTDBアミノ酸整列において使用されるパラメータは、スコアリングスキーム=PAM(受け入れた突然変異の百分率)0、k-タプル=2、ミスマッチペナルティ=1、結合ペナルティ=20、ランダム化グループの長さ=0、カットオフスコア=1、ウィンドウサイズ=配列の長さ、ギャップペナルティ=5、ギャップサイズペナルティ=0.05、ウィンドウサイズ=500、またはより短い対象配列の長さを含むことができる。該実施形態によれば、対象配列は、内部欠失ではなく、N-またはC末端の欠失により、問い合わせ配列よりも短いであれば、グローバル百分率同一性を計算するときに、FASTDBプログラムが対象配列のN末端及びC末端の切り捨てを考慮しないという事実を考慮して、結果を手動で補正することができる。N-及びC末端で切断された対象配列に対して、問い合わせ配列に対して、対応する対象残基と一致/整列されていない、対象配列のN-及びC末端に対して横方向である問い合わせ配列の残基の数を、問い合わせ配列の全塩基の百分率として計算することによって、百分率同一性を補正することができる。該FASTDB配列整列の結果により、残基が一致/整列しているか否かの測定を行うことができる。次いで、該百分率は、特定のパラメータを用いてFASTDBプログラムによって計算された百分率同一性から減算され、最終百分率同一性スコアに到達することができる。該最終百分率同一性スコアは、本実施形態の目的に使用することができる。いくつかの場合では、問い合わせ配列と一致/整列されていない対象配列のN-及びC末端への残基のみが、百分率同一性スコアを手動で調節する目的のために考慮される。即ち、この手動補正のために、対象配列の最も遠いN末端残基の外側の問い合わせ残基位置のみが考慮される。例えば、90残基の対象配列を100残基の問い合わせ配列と整列させて、百分率同一性を測定することができる。この欠失は、対象配列のN末端で起こるので、FASTDB整列は、該N末端の最初の10残基の整合/整列を示さない。10個の不对残基は、配列の10%を表す(一致しないN末端とC末端の残基数/クエリ配列の残基の総数)ので、FASTDBプログラムによって計算された百分率同一性スコアから10%が差し引かれる。残りの90残基が完全に一致した場合、最終百分率同一性は90%とすることができる。別の例では、90残基の対象配列は、100残基の問い合わせ配列と比較される。今回は、欠失が内部欠失であるため、該問い合わせ配列と一致/整列されていない対象配列のN-またはC末端に残基が存在しない。この場合、FASTDBにより算出された同一性百分率は手動で補正されない。繰り返すと、問い合わせ配列と整合/整列されていない対象配列のN-及びC末端の外側に位置する残基のみが、FASTDB整列に表示されるように、手動で補正される。

10

20

30

40

50

【0083】

"ハイブリッド形成"は、1つ以上のポリヌクレオチドが反応し、ヌクレオチド残基の塩基間の水素結合を介して安定化された複合体を形成する反応を指すことができる。該水素結合は、Watson-Crick塩基対やHoogsteen結合によって、または他の任意の配列特異的な方法によって生じることができる。該複合体は、二本鎖構造を形成する2本の鎖、多本鎖複合体を形成する3本以上の鎖、単一の自己ハイブリッド形成鎖、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができる。ハイブリッド形成反応は、PC反応の開始、またはリボザイムによるポリヌクレオチドの酵素的切断のような、より広範なプロセスにおいて工程を構成することができる。

【0084】

厳密なハイブリッド形成条件の例として、インキュベーションの温度:約25℃～約37℃、ハイブリッド形成緩衝液の濃度:約6x SSC～約10x SSC、ホルムアミドの濃度:約0%～約25%、及び洗浄溶液:約4x SSC～約8x SSCが含まれる。適度なハイブリッド形成条件の例として、インキュベーションの温度:約40℃～約50℃、緩衝液の濃度:約9x SSC～約2x SSC、ホルムアミドの濃度:約30%～約50%、及び洗浄溶液:約5x SSC～約2x SSCが含まれる。高度に厳密なハイブリッド形成条件の例として、インキュベーションの温度:約55℃～約68℃、緩衝液の濃度:約1x SSC～約0.1x SSC、ホルムアミドの濃度:約55%～約75%、及び洗浄溶液:約1x SSC、0.1x SSC、または脱イオン水が含まれる。一般に、ハイブリッド形成のインキュベーション時間は、1つ、2つまたはそれ以上の洗浄工程で、5分間～24時間であり、また、洗浄のインキュベーション時間は、約1、2または15分間である。SSCは、0.15 M NaCl及び15 mMクエン酸塩緩衝液である。理解されたいこととして、他の緩衝系を用いたSSCの等価物を用いることができる。

【0085】

本明細書で使用されるように、用語"単離された"は、他の物質を実質的に含まない分子または生物学的物質または細胞材料を指すことができる。一態様では、用語"単離された"は、DNAまたはRNAのような核酸、またはタンパク質またはポリペプチド(例えば、抗体またはその誘導体)、または他のDNAまたはRNAから分離された細胞または細胞小器官、または組織または器官、または自然源に存在するタンパク質またはポリペプチド、または細胞または細胞小器官、または組織または器官を指すことができる。用語"単離された"はまた、細胞材料、ウイルス物質、または組換えDNA技術によって産生された場合の培地、化学的に合成された場合の化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない核酸またはペプチドを指すことができる。また、"単離された核酸"は、断片として自然に存在せず、かつ自然な状態では発見できない核酸断片を含むことを意味する。いくつかの場合では、用語"単離された"はまた、他の細胞タンパク質から単離され、精製及び組換えポリペプチドの両方を包含することを意味するポリペプチドを指すために使用される。いくつかの場合では、用語"単離された"はまた、他の細胞または組織から単離された細胞または組織を指すために使用され、培養され、及び人工細胞または組織の両方を包含することを意味する。

【0086】

"伝達RNA"または"mRNA"は、DNAから転写され、次いで、イントロンとして知られる非コード部分を除去するために処理される核酸分子である。いくつかの場合では、得られたmRNAは、核(またはDNAが存在する別の遺伝子座)から排出され、タンパク質に翻訳される。用語"ブレ mRNA"は、非コード部分を除去するために処理する前の鎖を指すことができる。

【0087】

本明細書で使用されるように、用語"突然変異"は、当該タンパク質の共通配列に対してタンパク質をコードする核酸配列に対する改変を指すことができる。"ミスセンス"変異により、あるコドンは別のコドンから置換される。"ナンセンス"変異は、コドンを実質的にアミノ酸をコードするものから停止コドンに変更させる。ナンセンス変異は、しばしば、タ

10

20

30

40

50

ンパク質の切断された翻訳をもたらす。"サイレント変異"は、得られたタンパク質に影響を及ぼさないものである。本明細書で使用されるように、用語"点変異"は、遺伝子配列中の1個のヌクレオチドのみに影響を及ぼす変異を指すことができる。"スプライス部位変異"とは、とは、プレmRNA（イントロンを除去するための処理の前）に存在する変異であり、スプライス部位の誤った描写によるタンパク質の誤翻訳やしばしば切断を引き起こす。変異は、単一のヌクレオチド変動(SNV)を含むことができる。変異は、配列変異体、配列変動、配列改変、または対立遺伝子変異体を含むことができる。参照DNA配列は、参照データベースから得ることができる。変異は、機能に影響を及ぼすことができる。変異は、機能に影響を与えないことがある。変異は、1つまたは複数のヌクレオチド中のDNAレベルで、1つまたは複数のヌクレオチド中のリボ核酸(RNA)レベルで、1つまたは複数のアミノ酸中のタンパク質レベルで、またはそれらの任意の組み合わせにおいて起こることができる。前記参照配列は、NCBI参照配列データベース(RefSeq)のようなデータベースから得ることができる。変異を構成できる特定の変化は、置換、欠失、挿入、反転、または1以上のヌクレオチドまたは1つ以上のアミノ酸における変換を含むことができる。変異は、点変異であってもよい。変異は、融合遺伝子であってもよい。融合対または融合遺伝子は、転位置、間質欠失、染色体反転、またはそれらの任意の組み合わせのような変異に由来することができる。変異は、3倍、4倍等の反復配列の数の可変性を構成することができる。例えば、変異は、所与の配列に関連するコピー数の増加または減少(即ち、コピー数変動、またはCNV)であってもよい。変異は、異なる対立遺伝子における2つ以上の配列変化、または1つの対立遺伝子における2つ以上の配列変化を含むことができる。変異は、モザイクのような1つの対立遺伝子の1つの位置に2つの異なるヌクレオチドを含むことができる。変異は、キメラのような1つの対立遺伝子の1つの位置における2つの異なるヌクレオチドを含むことができる。変異は、悪性組織に存在することができる。変異の存在または不存在は、疾患または状態を発症するリスクの増加を示すことができる。変異の存在または非存在は、疾患または状態の存在を示すことができる。変異は、良性組織に存在することができる。変異の不存在は、組織または試料が良性であることを示すことができる。代替として、変異の不存在は、組織または試料が良性であることを示さないことがある。本明細書に記載される方法は、試料における変異の存在を同定することを含むことができる。

【0088】

用語"ポリヌクレオチド"及び"オリゴヌクレオチド"は、互換的に使用され、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチドまたはそれらの類似体または組み合わせのいずれかの任意の長さのヌクレオチドのポリマー形態を指す。ポリヌクレオチドは、任意の三次元構造を有することができ、既知または未知の任意の機能を実行することができる。以下は、ポリヌクレオチドの非限定的な例である：遺伝子または遺伝子断片（例えば、プローブ、プライマー、ESTまたはSAGEタグ）、エキソン、イントロン、伝達RNA(mRNA)、伝達RNA、リボソームRNA、RNAi、リボザイム、cDNA、組換えポリヌクレオチド、分枝ポリヌクレオチド、プラスミド、ベクター、任意の配列の単離されたDNA、任意の配列の単離されたRNA、核酸プローブ及びプライマー。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びヌクレオチド類似体のような修飾ヌクレオチドを含むことができる。存在する場合、ヌクレオチド構造に対する修飾は、ポリヌクレオチドの組み立ての前または後に付与することができる。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分によって中断され得る。ポリヌクレオチドは、標識成分との結合のような重合後にさらに修飾することができる。該用語はまた、二本鎖及び一本鎖分子の両方を指すことができる。特に明記しない限り、ポリヌクレオチドである本開示の任意の実施態様は、二本鎖形態及び二本鎖形態を構成することが知られているかまたは予測される2つの相補的な一本鎖形態の両方を包含することができる。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、RNAヌクレオチド及びDNAヌクレオチドの両方を含むことができる。

【0089】

用語"ポリヌクレオチド配列"は、ポリヌクレオチド分子のアルファベット表現であり得

る。該アルファベット表現は、中央処理装置を有するコンピュータ内のデータベースに入力することができ、機能的ゲノミクス及び相同性検索のようなバイオインフォマティクス用途に使用することができる。いずれのアルファベット表現においても、本開示は、RNA及びDNAの両方（即ち、"T"は"U"に置換され、またはその逆）を意図している。

【0090】

用語"リクルートドメイン"は、1つ以上のRNA編集体に結合し、またはそれをリクルートすることができるポリヌクレオチド配列を指す。例示的なリクルートドメインは、Aluドメイン、APOBECリクルートドメイン、GluR2ドメイン、Cas13リクルートドメイン、またはそれらの任意の組み合わせであり得る。

【0091】

用語"RNA編集体"とは、ヌクレオチドの化学修飾を引き起こして、ヌクレオチドを異なるヌクレオチドに変化させることができる生物学的分子を指す。いくつかの実施形態では、RNA編集体は、ポリヌクレオチド中の特定の部位にリクルートされ、所望の部位における核酸配列の変化を引き起こすことができる。RNA編集体の例には、APOBECタンパク質（例えば、APOBEC1、APOBEC2、APOBEC3A、APOBEC3B、APOBEC3C、APOBEC3E、APOBEC3F、APOBEC3G、APOBEC3H、またはAPOBEC4タンパク質）またはADARタンパク質（例えば、ADAR1、ADAR2、またはADAR3タンパク質）が含まれる。

【0092】

本明細書で使用されるように、用語"被験者"は、霊長類（例えば、ヒト、サル、チンパンジー、ゴリラ等）、齧歯類（例えば、ラット、マウス、スナネズミ、ハムスター、フェレ等）、ウサギ類、ブタ（例えば、ブタ、ミニチュアブタ）、ウマ、イヌ、ネコ等を含むが、これらに限定されない動物を指す。用語"被験者"及び"患者"は、本明細書では互換的に使用される。例えば、哺乳動物の被験者は、ヒト患者を指すことができる。

【0093】

"標的指向性ドメイン"とは、細胞中の標的RNAに少なくとも部分的に相補的なポリヌクレオチド配列を指す。標的指向性ドメインは、典型的には標的RNAと100%同一ではないが、標的RNA配列を修飾するために化学反応が望まれる1つ以上の部位でミスマッチを有する。標的指向性ドメインは、標的RNAに対する相補的RNAアンチセンス配列、ならびにRNA標的配列に相補的であるアンチセンスRNA配列を（転写時に）コードするDNA配列を含む。標的指向性ドメインは、典型的には、標的RNA配列に生物学的条件下でハイブリダイズするために、標的RNA配列に十分に相補的である。

【0094】

"伝達リボ核酸"または"tRNA"は、mRNAのタンパク質への翻訳を手伝う核酸分子である。tRNAは、3つのヘアピンループを含む独特の折り畳み構造を有する。これらのループの1つは、アンチコドンコードする"ステム"部分を含む。該アンチコドンは、mRNA上の対応するコドンと認識する。各tRNAには、該mRNAコドンに対応するアミノ酸が"荷電"されている。該"荷電"はtRNA合成酵素によって達成される。アンチコドンに対応するコドンがtRNAで認識されると、tRNAは、それが荷電されているアミノ酸を成長中のアミノ酸鎖に転移してポリペプチドまたはタンパク質を形成する。内因性tRNA合成酵素により内因性tRNAを帯電させることができる。従って、内因性tRNAは典型的には基準アミノ酸で荷電される。外部源から誘導された直交tRNAは、対応する直交tRNA合成酵素を必要とする。このような直交tRNAは、基準及び非基準アミノ酸の両方で荷電され得る。いくつかの実施形態では、tRNAが荷電されるアミノ酸は、in vivoでの検出を可能にするために検出可能に標識され得る。標識技術は、当技術分野で公知であり、限定するものではないが、クリックケミストリーを含む。ここでは、非天然アミノ酸を含むアジド/アルキンが、直交tRNA/合成酵素対によって添加され、従って、発蛍光団または他のそのような分子を含むアルキン/アジドを用いて検出され得る。

【0095】

本明細書で使用されるように、用語"変換"及び"遺伝子導入"は、外来核酸を宿主細胞に

10

20

30

40

50

導入するための様々な当技術分野で認められた技術を指すことを意図し、例えば、リン酸カルシウムまたは塩化カルシウム共沈、DEAE-デキストラン媒介遺伝子導入、リポフェクション（例えば、LIPOFECTIN(登録商標)(Invitrogen Corp., San Diego, CA), LIPOFECTAMINE(登録商標)(Invitrogen), FUGENE(登録商標)(Roche Applied Science, Basel, Switzerland), JETPEI™(Polyplus-transfection Inc., New York, NY), EFFECTENE(登録商標)(Qiagen, Valencia, CA), DREAMFECT(登録商標)(OZ Biosciences, France) 等のような市販の試薬を使用)、または電気穿孔法が含まれる。宿主細胞を変換または遺伝子導入するのに適した方法は、Sambrookら(Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd, ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989)及び他の実験室マニュアルに見出すことができる。本明細書で使用される標準的な組換えDNA及び分子クローニング技術は、当業界で周知されており、Sambrook, J., Fritsch, E.F.とManiatis, T., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, N.Y., (1989) and by Silhavy, T.J., Bannan, M.L.とEnquist, L.W., Experiments with Gene Fusions; Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, N.Y., (1984); and by Ausubel, F.M.ら, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley-Interscience (1987)に記載されている。さらなる有用な方法は、マニュアルに記載され、高度な細菌遺伝学(Davis, RothとBotstein, Cold Spring Harbor Laboratory, 1980)、遺伝子融合の実験(Silhavy, Berman とEnquist, Cold Spring Harbor Laboratory, 1984)、分子遺伝学の実験(Miller, Cold Spring Harbor Laboratory, 1972)、細菌遺伝学の実験技術(Maloy, in JonesとBartlett, 1990)、及び細菌遺伝学の短期コース(Miller, Cold Spring Harbor Laboratory 1992)が含まれる。これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

10

20

【0096】

本明細書で使用されるように、用語"治療する"、"治療している"及び"治療"は、疾患または障害の発症を予防または遅延させること、及び/または疾患または障害の症状の重症度または頻度を減少させることを含む、疾患または障害に関連する症状を改善することを指す。

30

【0097】

本明細書で使用されるように、核酸分子（例えば、人工ガイドRNA）の文脈で使用される用語"環状"は、一般に、次々にヌクレオチドを有する環状2次元フォーマットのポリヌクレオチド配列として表すことができる核酸分子を指すことができる。ここで、該表されるポリヌクレオチドが環状である。いくつかの実施形態では、環状核酸分子は、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、3'還元性ヒドロキシル、またはこれらの両方を含まない。

【0098】

本明細書で使用されるように、用語"ベクター"は、プラスミド、ウイルス、コスミド、ファージ、BAC、YAC等を含むがこれらに限定されない、異なる宿主間での伝達のために設計された核酸構築物を指すことができる。いくつかの実施形態では、"ウイルスベクター"は、in vivo、ex vivoまたはin vitroのいずれかで宿主細胞に送達されるポリヌクレオチドを含む組換えによって産生されたウイルスまたはウイルス粒子として定義される。いくつかの実施形態では、プラスミドベクターは、市販のベクターから調製することができる。他の実施形態では、ウイルスベクターは、バキュロウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス、AAV等から当該技術分野で公知の技術に従って製造することができる。一実施形態では、前記ウイルスベクターは、レンチウイルスベクターである。ウイルスベクターの例としては、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ関連ウイルスベクター、アルファウイルスベクター等が含まれる。感染性タバコモザイクウイルス(TMV)ベースのベクターは、タンパク質の製造に使用でき、また、タバコ葉にお

40

50

いて、Griffithsinを発現することが報告されている(O'Keefeら、(2009) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 106(15):6099-6104)。Semliki Forestウイルススペースのベクター及びSindbisウイルススペースのベクターのようなアルファウイルスベクターも、遺伝子治療及び免疫療法での使用のために開発されている。SchlesingerとDubensky (1999) Curr. Opin. Biotechnol. 5:434-439及びYingら、(1999) Nat. Med. 5(7):823-827を参照されたい。遺伝子導入がレトロウイルスベクターによって媒介される態様において、ベクター構築物は、レトロウイルスゲノムまたはその一部を含むポリヌクレオチド、及び目的の遺伝子を指すことができる。遺伝子導入に使用するためのベクターの最新方法に関するさらなる詳細は、例えば、遺伝子治療のためのKottermanら (2015) 遺伝子療法用のウイルスベクター：医用生体工学の翻訳及び臨床展望年次レビュー17に見出すことができる。プロモーター及びポリヌクレオチドが作動可能に連結され得るクロニング部位の両方を含むベクターは、当該技術分野において周知である。このようなベクターは、in vitroまたはin vivoでRNAを転写することができ、Agilent Technologies (Santa Clara, Calif.)及びPromega Biotech (Madison, Wis.)のような供給源から市販されている。一態様では、該プロモーターは、pol IIIプロモーターである。

10

20

30

40

50

【0099】

あるベクターは、それらが導入される宿主細胞中で自律複製が可能である（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクター及びエピソーム哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入時に宿主細胞のゲノムに組み込まれ、それによって宿主ゲノムと共に複製される。さらに、あるベクターは、それらが機能的に連結されている遺伝子の発現を方向づけることができる。このようなベクターは、本明細書では"発現ベクター"と呼ばれる。一般に、組換えDNA技術における有用性の発現ベクターは、しばしばプラスミドの形態である。本明細書では、"プラスミド"及び"ベクター"を交換可能に使用することができる。しかし、本開示は、同等の機能を果たすウイルスベクター（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルス、及びアデノ随伴ウイルス）等のそのような他の形態の発現ベクターを含むことを意図している。典型的には、前記ベクターまたはプラスミドは、関連する1つまたは複数の遺伝子の転写と翻訳を方向づける配列、選択可能なマーカー、及び自律複製または染色体統合を可能にする配列を含む。適切なベクターは、転写開始制御を保持する遺伝子の領域5'と、転写終結を制御するDNA断片の領域3'とを含む。両方の制御領域は、変換された宿主細胞に相同な遺伝子に由来し得るが、そのような制御領域はまた、産生宿主として選択された種に天然ではない遺伝子に由来し得ることが理解されるべきである。

【0100】

典型的には、ベクターまたはプラスミドは、遺伝子断片、選択マーカー、及び自律複製または染色体統合を可能にする配列の転写及び翻訳を方向づける配列を含有する。適切なベクターは、転写開始制御を保持する遺伝子の領域5'と、転写終結を制御するDNA断片の領域3'とを含む。両方の制御領域は、変換された宿主細胞に相同な遺伝子に由来し得るが、そのような制御領域は、産生宿主として選択された種に天然ではない遺伝子に由来し得ることが理解されるべきである。

【0101】

所望の宿主細胞における関連するコード領域の発現を駆動するのに有用な開始制御領域またはプロモーターは、多数あり、当業者に周知である。事実上、これらの遺伝子要素を駆動できる任意のプロモーターは、本開示において使用するのに適している。終結制御領域はまた、好ましい宿主に固有の種々の遺伝子に由来し得る。

【0102】

アデノシンからイノシン（AからIへ）のRNA編集は、RNA (ADAR)酵素に作用するアデノシンデアミナーゼによって触媒される一般的な転写後RNA修飾である。ADARは、二本鎖RNA (dsRNA)を、主として、Alu反復要素のような非コード領域に編集しながら、コード領域内の多くの部位も編集し、タンパク質機能の主要な改変をもたらす。イノシンとグアノシンの構造的類似性は、編集された塩基をグアノシンとして認識する翻訳及び

スプライシング機構を説明し、それによってADARを、タンパク質配列を改変するための魅力的なツールにする。過去10年間で、いくつかの研究は、*invitro*及び*invivo*の両方で人工ADARリクルートRNA (adRNA) を用いて標的RNA配列にそれらをリクルートすることにより、部位特異的RNA編集のためにADAR酵素を再利用した。しかし、これらの研究のほとんど全ては、外因的に発現されたADAR酵素及びそれらの変異体に依存する。いくつかの場合では、外因性酵素過剰発現を使用する主要な制限の1つは、トランスクリプトーム全体に多数の非特異的なAからIへの編集を導入する傾向である。この問題に対する潜在的な解決法は、adRNAを遺伝操作して、種々の異なる細胞型にわたって発現される内因性ADARのリクルートを可能にすることである。最近では、長さ100 bpの単純な長アンチセンスRNAを使用して、内因性ADARをリクルートするのに十分であり、これらの長アンチセンスRNAは、遺伝的にコード化可能であり、化学的に合成可能であることが示されている。遺伝的にコード化可能な長アンチセンスRNA及び化学的に修飾されたアンチセンスオリゴヌクレオチドの両方を使用することで、転写物特異性の高いRNA編集が可能になった。しかし、これらのアプローチの効率は、酵素の過剰発現で見られた場合よりも著しく低い。さらに、化学的に修飾されたアンチセンスオリゴヌクレオチドは、合成するのに極めて高価である。逆に、遺伝的にコード化可能なadRNAは、DNAとして送達され、H1、U6または同様のプロモーターを介して細胞自体によって転写されるか、*in vitro*転写によって合成される場合はRNAとして送達されることができ、遺伝的にコード化可能なadRNAの使用は、化学的に修飾されたアンチセンスオリゴヌクレオチドより安価で、より便利であり得る。

10

20

【0103】

いくつかの場合では、RNA編集空間の障害となるのは、ガイド安定性である。内因性ADARを正常にリクルートするには、adRNAが長期間存在しうるが、一本鎖RNAの半減期は哺乳類細胞において約30分間以下である。これは、5'末端または3'末端から一本鎖RNAを分解するエキソヌクレアーゼに対する感受性が原因でありうる。ガイド安定性を向上させるために、ガイドRNAに修飾を加えることができる。本明細書に記載されるように、環状ガイドRNAを形成することは、ガイドRNAの安定性を向上させるための1種の修飾でありうる。環状化は、ガイドRNAの露出した末端が分解するのを防止することができ、*in vivo*または*in vitro*でのガイドRNAの半減期を著しく延長させることができる。いくつかの場合では、環状ガイドRNAは、1つ以上の露出した末端が加水分解するのを防止することがある。いくつかの場合では、環状ガイドRNAは、比較可能な非環状ガイドRNAと比較して、ガイドRNAの半減期を著しく延長させることがある。いくつかの場合では、環状ガイドRNAを形成することは、被験者への送達のような、*in vivo*で送達されるとき、比較可能な非環状ガイドRNAと比較して、ガイドRNAの半減期を著しく延長させることがある。いくつかの場合では、環状ガイドRNAを形成することは、比較可能な非環状ガイドRNAと比較して、被験者に投与されるガイドRNAの量（例えば、治療的有効量）を著しく減少させることがある。いくつかの場合では、環状ガイドRNAを形成することは、比較可能な非環状ガイドRNAと比較して、編集効率を著しく向上させ、非特異的編集、またはそれらの組み合わせを著しく減少させることがある。

30

40

【0104】

環状ガイドRNAは、非環状ガイドRNAと比較して種々の利点を提供することができる。比較可能な非環状ガイドRNAと比較して、環状ガイドによって、安定性が改善され、RNA編集体（例えば、内因性RNA編集酵素）のリクルートが改善され、半減期が延長され、またはそれらを任意に組み合わせた利点が提供される。環状ガイドRNAは、1つ以上のこれらの改善された品質を提供し、化学修飾や糖付加等、ガイド安定性を向上させるように設計された他種の修飾を含むガイドRNAと比較して、遺伝的コード化可能性を保持しうる。環状ガイドRNAは、遺伝的にコードされ、ベクターに送達され、改善された安定性を保持し得る。いくつかの場合では、コードされた人工ガイドRNAをコドン最適化することができる。

50

【0105】

人工ガイドRNAは、環状であってもよい。人工ガイドRNAは、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシルを含まなくてもよい。人工ガイドRNAは、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、3'還元性ヒドロキシル、または両方を含まなくてもよい。人工ガイドRNAは、ヒト細胞中に天然に存在するmRNAよりも加水分解の影響を受けにくい。人工ガイドRNAは、環状であってもよく、非環状の実質的に類似の人工ガイドRNAと実質的に同様の二次構造を保持してもよい。前記人工ガイドRNAは、リクルートドメイン、標的指向性ドメイン、またはその両方を含むことができる。前記人工ガイドRNAは、酵素のようなRNA編集体をリクルートし、RNA配列の塩基を編集してもよい。環状の人工ガイドRNAは、予めに曲げられていてもよい。環状の人工ガイドRNAは、減少したレベルのエントロピーを含んでもよい。

10

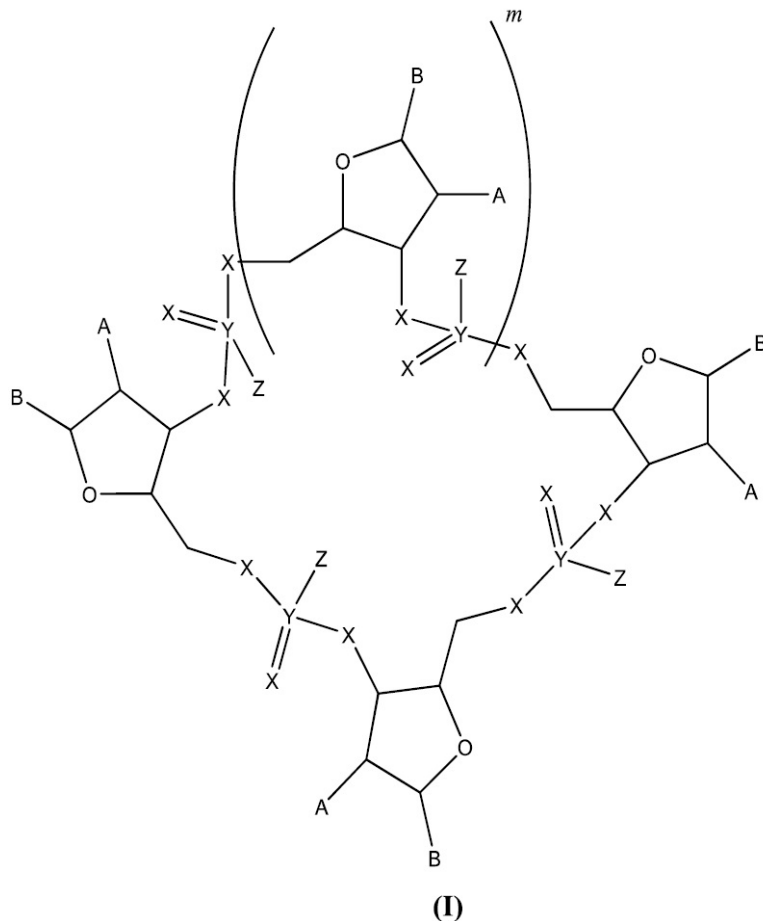
【0106】

環状の人工ガイドRNAは、RNA編集体をリクルートし、RNA配列中の塩基に対して化学変換を実施し得るRNA編集体リクルートドメインのようなリクルートドメインを含んでもよい。該リクルートドメインは、内因性RNA編集体または外因性RNA編集体をリクルートしてもよい。いくつかの態様では、環状の人工ガイドRNAは、別個のリクルートドメインを含まなくてもよい。前記RNA編集体は、内因性酵素または組換え酵素のような酵素であってもよい。該酵素は、前記塩基に対して、前記編集を実施してもよい。前記環状の人工ガイドRNAはまた、標的指向性ドメインを含んでもよい。

【0107】

人工ポリヌクレオチドは、式(I)の構造を含んでもよい：

20



30

40

いくつかの場合では、各Xは、独立してO、SまたはNRであってもよく；各Yは、独立してPまたはSであってもよく；各Zは、独立してOM、SM、またはNRMであってもよく；各Aは、独立してH、D、ハロゲン、OM、SM、NRM、またはNRR'であってもよく；各Bは、独立してウラシル、チミン、アデニン、シトシン、グアニン、これらのいずれかの

50

塩、またはこれらのいずれかの誘導体であってもよく；各Mは、独立して無機または有機の陽イオン、HまたはDであってもよく；各R及びR'は、独立してH、D、ハロゲン、またはC₁~C₆アルキルであってもよく；また、mは、1~1,000の任意の整数であってもよい。いくつかの場合には、mは、約5~約250、約100~約500、約400~約800、約600~約1200、約800~約2000、約1500~約4000、または約300~約10000の独立した整数であってもよい。いくつかの場合には、各Xは、0であってもよい。いくつかの場合には、各Zは、独立してOまたはSであってもよい。いくつかの場合には、各Yは、Pであってもよい。いくつかの場合には、人工ポリヌクレオチドは、環状であってもよい。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、人工ガイドRNAのようなガイドポリヌクレオチドであってもよい。いくつかの場合では、前記標的指向性ドメインは、標的RNAのコード領域と少なくとも部分的に結合するように構成されてもよい。いくつかの場合では、標的指向性ドメインは、標的RNAに少なくとも部分的に相補的であり得る。いくつかの場合では、少なくとも部分的に相補的であるのは、前記標的RNAに対する逆補体に対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる標的指向性ドメインを含むことができる。いくつかの場合では、少なくとも部分的に相補的であるのは、前記標的RNAの逆相補体に対して少なくとも約70%、少なくとも約80%、または少なくとも約90%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含む標的指向性ドメインを含むことができる。いくつかの場合では、前記標的指向性ドメインは、疾患または状態で実施され得る標的RNAに少なくとも部分的に結合することができる。前記標的指向性ドメインと前記標的RNAとの結合は、ADAR1、ADAR2、APOBEC、またはそれらの組み合わせのようなRNA編集体による塩基の編集を促進することがある。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、RNA編集体リクルートドメインをさらに含んでもよい。いくつかの場合では、塩基の編集は、塩基の化学変換であってもよい。いくつかの実施形態では、前記標的RNAは、ナンセンス突然変異、ミスセンス突然変異、またはその両方を含むことができる。いくつかの場合では、標的指向性ドメインは、前記標的RNAに対して mismatches され得る少なくとも単一のヌクレオチドを含むことができる。いくつかの場合には、前記標的指向性ドメイン上の mismatches されたヌクレオチドは、2個のヌクレオチドに隣接し、前記標的RNAに相補的であり得る mismatches されたヌクレオチドの各側に1つずつ隣接することができる。いくつかの場合では、RNA編集は、標的RNA及び該標的RNAを同一の細胞に標的とするように設計された人工ポリヌクレオチドを遺伝子導入することによって *in vitro* アッセイにおいて決定され得る。該標的RNAは、人工ポリヌクレオチドによる編集を同定するために配列決定され得る。いくつかの場合では、標的RNAを初代細胞株に遺伝子導入することは、該標的RNAをコードするプラスミドを初代細胞株に遺伝子導入することを含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドを初代細胞株に遺伝子導入することは、人工ポリヌクレオチドをコードするプラスミドを初代細胞株に遺伝子導入することを含むことができる。いくつかの場合では、標的RNAのRNA編集の百分率は、ガイドRNAまたは人工ポリヌクレオチドによる遺伝子導入後の様々な時点（例えば、24時間、48時間、96時間等）で、該標的RNAをcDNAに逆転写し、サンガー配列決定法を用いて測定することができる。いくつかの場合では、ポリメラーゼ連鎖反応による配列決定の前に、cDNAを増幅することができる。サンガー配列決定からのサンガートレースを分析して、ガイドRNAの編集効率を評価することができる。いくつかの場合では、細胞は、初代細胞であってもよい。いくつかの場合では、初代細胞または細胞は、ニューロン、光受容体細胞（例えば、Sコーン細胞、Lコーン細胞、Mコーン細胞、ロッド細胞）、網膜色素上皮細胞、グリア細胞（例えば、星状膠細胞、オリゴデンドロサイト、ミクログリア）、筋肉細胞（例えば、筋芽細胞、筋管）、肝細胞、肺上皮細胞、または線維芽細胞（例えば、真皮線維芽細胞）であってもよい。いくつかの場合では、細胞は、水平細胞、神経節細胞、または双極細胞であってもよい。いくつかの場合では、細胞株は、HEK293T、NCI-60、MCF-7、HL-60、RD、LHCN分化の、LHCN未分化の、Saos-2、CHO、またはHeLa細胞のような哺乳動物の細胞株であってもよい。いくつかの場合では、細胞株は、Sf9のような昆虫の細胞株であって

10

20

30

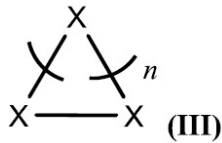
40

50

もよい。

【0108】

人工ガイドポリヌクレオチドのような人工ポリヌクレオチドは、式(III)の構造を含んでもよい：



いくつかの場合では、各Xは、独立してウラシル、チミン、アデニン、シトシン、グアニン、これらのいずれかの塩、またはこれらのいずれかの誘導体であってもよい塩基を含むヌクレオチドであってもよく；nは、独立して0～1,000の整数であってもよい。いくつかの場合では、nは、独立して約5～約250、約100～約500、約400～約800、約600～約1200、約800～約2000、約1500～約4000、または約300～約10000の整数であってもよい。いくつかの場合では、各ヌクレオチドは、各連結に対して独立してホスホエステル、ホスホチオエステル、ホスホチオエート、またはホスホルアミダイト連結によって、2つの隣接するヌクレオチドに連結され得る。いくつかの場合では、前記標的指向性ドメインは、前記標的RNAのコード領域と少なくとも部分的に結合するように構成され得る。いくつかの場合では、前記標的指向性ドメインは、疾患または状態に関係し得る標的RNAに少なくとも部分的に結合することができる。いくつかの場合では、前記標的指向性ドメインは、標的RNAのコード領域と少なくとも部分的に結合するように構成され得る。該標的指向性ドメインと前記標的RNAとの結合は、ADAR1、ADAR2、APOBEC、またはそれらの任意の組み合わせのようなRNA編集体による塩基の編集を促進することができる。いくつかの場合では、該塩基の編集は、塩基の化学変換であってもよい。いくつかの実施形態では、前記標的RNAは、ナンセンス突然変異、ミスセンス突然変異、またはその両方を含むことができる。いくつかの場合では、標的指向性ドメインは、該標的RNAに対してミスマッチされ得る少なくとも単一のヌクレオチドを含むことができる。いくつかの場合では、前記標的指向性ドメイン上のミスマッチされたヌクレオチドは、2個のヌクレオチドに隣接し、前記標的RNAに相補的であり得るミスマッチされたヌクレオチドの各側に1つずつ隣接することができる。いくつかの場合では、前記編集は、本明細書に記載されるin vitroアッセイによって決定され得る。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、RNA編集体リクルートドメインをさらに含むことができる。

【0109】

いくつかの実施形態では、RNA編集体による化学変換のような化学変換は、塩基の編集を含んでもよい。いくつかの実施形態では、塩基の編集のような化学変換は、さもなければ化学変換を欠く比較可能な標的RNAと比較して、該化学変換による標的RNAの翻訳後にタンパク質またはその断片のレベルの増加をもたらすことができる。いくつかの場合では、該レベルの増加は、約5%～約100%、約10%～約50%、約25%～約75%、または約40%～約90%であり得る。いくつかの実施形態では、化学変換は、さもなければ化学変換を欠く比較可能な標的RNAと比較して、該化学変換による標的RNAの翻訳後にタンパク質またはその断片のレベルの減少をもたらすことができる。いくつかの場合では、該レベルの減少は、約5%～約99%、10%～約50%、25%～約75%、または約40%～約90%であり得る。いくつかの実施形態では、化学変換は、標的RNAの塩基の編集による標的RNAの翻訳後、さもなければ該編集を欠く比較可能な標的RNAの翻訳されたタンパク質と比較して、タンパク質またはその断片の長さの増加、タンパク質またはその断片の機能の増強、タンパク質またはその断片の安定性の向上、またはこれらの任意の組み合わせをもたらすことができる。いくつかの場合では、該長さの増加は、約5%～約100%、約2%～約10%、約10%～約25%、約25%～約50%、約40%～約80%、または約75%～約150%であり得る。いくつかの場合では、タンパク質またはその断片の長さの増加は、100%

を超えることができる。いくつかの場合では、該安定性の向上は、タンパク質またはその断片の半減期の延長であり得る。いくつかの場合では、該半減期の延長は、該編集を欠く比較可能な標的RNAの翻訳されたタンパク質の、少なくとも約2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、または10倍であり得る。いくつかの場合では、該機能の増強は、反応の速度を増加させるか、 V_{max} を増加させるか、またはその両方であり得る、酵素等のタンパク質またはその断片を含むことができる。いくつかの場合では、該機能の増強は、さもなければ該編集を欠く比較可能な標的RNAの翻訳されたタンパク質と比較して、より低い活性化エネルギーを含む、塩基の編集を伴う標的RNAによってコードされるタンパク質（例えば、酵素）またはその断片を含んでもよい。

【0110】

いくつかの実施形態では、人工ポリヌクレオチドは、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、3'還元性ヒドロキシル、またはその両方を含まなく(欠如し)てもよい。いくつかの場合では、各5'ヒドロキシル及び各3'ヒドロキシルは、独立して共有酸素リン結合によってリンに結合されてもよい。いくつかの場合では、そのリンは、ホスホジエステル基に含有されてもよい。

【0111】

いくつかの実施形態では、人工ポリヌクレオチドは、キラリティを含んでもよい。いくつかの実施形態では、キラルであり得る任意の中心原子は、独立してRまたはS配置であり得る。いくつかの場合では、キラルは、原子の4つの異なる種類の原子または鎖に結合し得る分子中の原子を含んでもよい。いくつかの場合では、ガイドRNAのような人工ポリヌクレオチドは、単一のジアステレオマーであってもよく、または主に1つのジアステレオマーであってもよい。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、約51%～約100%、約51%～約60%、約60%～約75%、約70%～約90%、または約80%～約99%のジアステレオマー過剰を有してもよい。ジアステレオマー過剰は、キラル物質に使用される純度測定であり得る。いくつかの場合では、これは、試料が1つのジアステレオマーを他のジアステレオマーよりも多量に含む程度を反映しうる。いくつかの場合では、単一の純粋なジアステレオマーは、100%のジアステレオマー過剰を有し得る。1つのジアステレオマーを70%有し、他のジアステレオマーを30%有する試料は、40%(70%～30%)のジアステレオマー過剰を有し得る。

【0112】

人工ポリヌクレオチド（例えば、人工ガイドRNA）は、標的RNAに少なくとも部分的に相補的であり得る標的指向性ドメインを含んでもよい。いくつかの場合では、前記人工ガイドRNAは、互いに共有連結した複数の糖及びリン酸部分を含む骨格を含むことができる。いくつかの場合では、該骨格は、溶媒に暴露され得る5'還元性ヒドロキシル、3'還元性ヒドロキシル、またはその両方を含まなく(欠如し)てもよい。いくつかの場合では、前記人工ガイドRNAは、RNA編集体リクルートドメインを有してもよい。該RNA編集体リクルートドメインは、例えば、ADAR1またはADAR2のようなRNA編集体と相互作用するように構成されてもよい。いくつかの場合では、前記人工ガイドRNAは、RNA編集体リクルートドメインを有しなく(欠如し)てもよい。

【0113】

前記塩基上の化学変換は、標的されたRNA配列の1つ以上の塩基を編集することを包含することができる。前記塩基上の化学変換は、センスコドンに停止コドンに編集し、停止コドンにセンスコドンに編集し、第1センスコドンに第2センスコドンに編集し、または第1停止コドンに第2停止コドンに編集してもよい。いくつかの場合では、前記化学変換は、第1アミノ酸を特定するセンスコドンに、第2アミノ酸を特定する第2センスコドンに変換することができる。いくつかの場合では、該第1アミノ酸は、プロテアーゼ切断部位であってもよい。

【0114】

いくつかの場合では、ポリヌクレオチド配列は、本明細書に記載されている配列に対して、約70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%

10

20

30

40

50

、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列相同性を共有することができる。いくつかの例では、本明細書に記載される任意の配列の長さを、元の配列の約30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または98%に切断することができる。

【0115】

いくつかの場合では、標的指向性ドメインは、長さが約20個のヌクレオチド～約1,000個のヌクレオチド、約10個のヌクレオチド～約100個のヌクレオチド、約50個のヌクレオチド～約500個のヌクレオチド、または約400ヌクレオチド～約1000個のヌクレオチドの配列長を有することができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドの標的指向性ドメイン、または人工ポリヌクレオチドを形成するための構築物は、配列番号1～1417中のいずれかのポリヌクレオチドに対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、または95%の相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる(表1～12も参照)。いくつかの場合では、表1～12中の配列は、人工ポリヌクレオチドの標的指向性ドメイン、または人工ポリヌクレオチドを形成するための構築物を少なくとも部分的コードすることができる。いくつかの場合では、表1～12では、T(チミン)をポリヌクレオチド中のU(ウラシル)で置換することができる。いくつかの場合では、表1～12では、全てのTをポリヌクレオチド中のUで置換することができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドを形成するための構築物の標的指向性ドメインまたは人工ポリヌクレオチドは、表1～12中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、または95%の配列長を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドを形成するための構築物の標的指向性ドメインまたは人工ポリヌクレオチドは、表1～12中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、または95%の相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表1中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表2中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表3中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表4中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表5中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表6中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表7中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表8中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表9中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表10中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表11中のポリヌ

10

20

30

40

50

クレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、表12中のポリヌクレオチドのいずれか1つに対して少なくとも約80%の配列相同性を有するポリヌクレオチド配列を含むことができる。

【0116】

表1(以下の配列は、RNAまたはDNA (メチル化が明確に示されない限り、TはUであってもよく、またはその逆も)であり得ることが認識されるであろう。例えば、DNA配列をベクターから発現させてRNAを産生することができる。)

SEQ ID NO.	Sequence 5' -> 3
1	G*G*G*C*A*C*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T
2	G*G*C*A*C*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*C
3	G*C*A*C*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*C*C
4	C*A*C*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*C*C*A
5	A*C*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*C*C*A*A
6	C*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*C*C*A*A*A
7	mG*mG*mG*mC*mA*C*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T
8	mG*mG*mC*mA*mC*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*C
9	mG*mC*mA*mU*mA*A*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*C*C
10	mC*mA*mC*mA*mA*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*C*C*A
11	mA*mC*mA*mA*mG*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*C*C*A*A
12	mC*mA*mA*mG*mG*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*C*C*A*A*A
13	mG*mG*mG*mC*mA*C*A*A*G*G*G*C*A*C*A*mG*mA*mC*mU*mU
14	mG*mG*mC*mA*mC*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*mA*mC*mU*mU*mC
15	mG*mC*mA*mC*mA*A*G*G*G*C*A*C*A*G*A*mC*mU*mU*mC*mC
16	mC*mA*mU*mA*mA*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*mU*mU*mC*mC*mA
17	mA*mC*mA*mA*mG*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*mU*mC*mC*mA*mA
18	mC*mA*mA*mG*mG*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*mC*mC*mA*mA*mA
19	mG*mC*mA*mC*mA*mA*mG*mG*G*C*A*C*A*G*A*mC*mU*mU*mC*mC
20	mC*mA*mC*mA*mA*mG*mG*G*C*A*C*A*G*A*mC*mU*mU*mC*mC*mA
21	mA*mC*mA*mA*mG*mG*G*C*A*C*A*G*A*mC*mU*mU*mC*mC*mA*mA
22	mC*mA*mA*mG*mG*G*C*A*C*A*G*A*mC*mU*mU*mC*mC*mA*mA*mA
23	mGmCmAmCmAmAmGmG*G*C*A*C*A*G*A*mCmUmUmCmC
24	mCmAmCmAmAmGmG*G*C*A*C*A*G*A*mCmUmUmCmCmA
25	mAmCmAmAmGmG*G*C*A*C*A*G*A*mCmUmUmCmCmA
26	mCmAmAmGmG*G*C*A*C*A*G*A*mCmUmUmCmCmA
27	mGmGmGmCmA*C*A*A*G*G*G*C*A*C*A*mGmAmCmUmU
28	mGmGmCmAmC*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*mAmCmUmUmC
29	mGmCmAmCmA*A*G*G*G*C*A*C*A*G*A*mCmUmUmCmC
30	mCmAmCmAmA*G*G*G*C*A*C*A*G*A*C*mUmUmCmCmA
31	mAmCmAmAmG*G*G*C*A*C*A*G*A*C*T*mUmCmCmA
32	mCmAmAmGmG*G*C*A*C*A*G*A*C*T*T*mCmCmA
33	G*SG*SG*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST
34	G*SG*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC
35	G*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC
36	C*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA
37	A*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA*SA
38	C*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA*SA*SA

10

20

30

40

50

39	mG*SmG*SmC*SmA*SmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmA*SmC*S mU*SmU*SmC
40	mG*RmG*RmC*RmA*RmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmA*RmC*R mU*RmU*RmC
41	mGmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmUmC
42	mG*SmG*SmC*SmA*SmC*SmA*SmA*SmG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC* ST*ST*SC
43	mG*RmG*RmC*RmA*RmU*RmA*RmA*RmG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC *ST*ST*SC
44	mGmGmCmAmCmAmAmG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC
45	mG*RmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmU*RmC
46	mG*SmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmU*SmC
47	G*SC*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA
48	C*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC
49	A*SG*SG*SG*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST
50	A*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA*SA*SA*SG
51	A*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA*SA*SA*SG*SG
52	G*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA*SA*SA*SG*SG*SC
53	mG*mG*mC*mA*mC*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*mA*mC*mU*BrdU*mC
54	mG*mG*mC*mA*mC*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*mA*mC*BrdU*BrdU*mC
55	G*G*G*C*A*C*A*A*G*G*G*C*d2AP*C*A*G*A*C*T*T
56	G*G*G*C*A*C*A*A*G*G*G*C*d2AP*C*A*G*A*C*T*T*C
57	G*C*A*C*A*A*G*G*G*C*d2AP*C*A*G*A*C*T*T*C*C
58	G*G*G*C*A*C*A*A*G*G*G*C*dDAP*C*A*G*A*C*T*T
59	G*G*G*C*A*C*A*A*G*G*G*C*dDAP*C*A*G*A*C*T*T*C
60	G*C*A*C*A*A*G*G*G*C*dDAP*C*A*G*A*C*T*T*C*C
61	G*SmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmU*SC
62	G*mGmCmAmC*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*mAmCmUmU*C
63	mG*mGmCmAmC*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*mAmCmUmU*mC
64	Geo*Geom5CeoAeom5Ceo*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*Aeom5CeoTeoTeo*m5Ceo
65	G*A*G*C*A*G*C*T*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A
66	A*G*C*A*G*C*T*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*C
67	G*C*A*G*C*T*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*C*A
68	C*A*G*C*T*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*C*A*A
69	A*G*C*T*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*C*A*A*C
70	G*C*T*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*C*A*A*C*C
71	mG*mA*mG*mC*mA*G*C*T*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A
72	mA*mG*mC*mA*mG*C*T*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*C
73	mG*mC*mA*mG*mC*T*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*C*A
74	mC*mA*mG*mC*mU*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*C*A*A
75	mA*mG*mC*mU*mG*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*C*A*A*C
76	mG*mC*mU*mG*mC*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*C*A*A*C*C

10

20

30

40

50

77	mG*mA*mG*mC*mA*G*C*T*G*C*A*A*C*C*T*mG*mG*mC*mA*mA
78	mA*mG*mC*mA*mG*C*T*G*C*A*A*C*C*T*G*mG*mC*mA*mA*mC
79	mG*mC*mA*mG*mC*T*G*C*A*A*C*C*T*G*G*mC*mA*mA*mC*mA
80	mC*mA*mG*mC*mU*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*mA*mA*mC*mA*mA
81	mA*mG*mC*mU*mG*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*mA*mC*mA*mA*mC
82	mG*mC*mU*mG*mG*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*mC*mA*mA*mC*mC
83	mG*mA*mG*mC*mA*mG*mC*T*G*C*A*A*C*C*mU*mG*mG*mC*mA*mA
84	mGmAmGmCmAmGmC*T*G*C*A*A*C*C*mUmGmGmCmAmA
85	mA*mG*mC*mA*mG*mC*T*G*C*A*A*C*C*T*G*mG*mC*mA*mA*mC
86	mAmGmCmAmGmC*T*G*C*A*A*C*C*T*G*mGmCmAmAmC
87	mG*mG*mA*mG*mC*T*G*C*A*A*C*C*mG*mG*mG*mC*mA*mA*mC*mA
88	mGmCmAmGmC*T*G*C*A*A*C*C*mUmGmGmCmAmAmCmA
89	mGmAmGmCmA*G*C*T*G*C*A*A*C*C*T*mGmGmCmAmA
90	mAmGmCmAmG*C*T*G*C*A*A*C*C*T*G*mGmCmAmAmC
91	mGmCmAmGmC*T*G*C*A*A*C*C*T*G*G*mCmAmAmCmA
92	mCmAmGmCmU*G*C*A*A*C*C*T*G*G*C*mAmAmCmAmA
93	mAmGmCmUmG*C*A*A*C*C*T*G*G*C*A*mAmCmAmAmC
94	mGmCmUmGmC*A*A*C*C*T*G*G*C*A*A*mCmAmAmCmC
95	G*SA*SG*SC*SA*SG*SC*ST*SG*SC*SA*RA*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA
96	A*SG*SC*SA*SG*SC*sr4SG*SC*SA*RA*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA*SC
97	G*SC*SA*SG*SC*ST*SG*SC*SA*RA*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA*SC*SA
98	C*SA*SG*SC*ST*SG*SC*SA*RA*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA*SC*SA*SA
99	A*SG*SC*ST*SG*SC*SA*RA*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA*SC*SA*SA*SC
100	G*SC*ST*SG*SC*SA*RA*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA*SC*SA*SA*SC*SC
101	G*G*G*C*C*A*A*C*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*C*A
102	G*G*C*C*A*A*C*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*C*A*G
103	G*C*C*A*A*C*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*T*A*G*G
104	C*C*A*A*C*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*C*A*G*G*A
105	C*A*A*C*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*C*A*G*G*A*G
106	A*A*C*A*G*C*T*A*G*C*C*T*G*C*A*G*G*A*G*G
107	mG*mG*mG*mC*mC*A*A*C*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*C*A
108	mG*mG*mC*mC*mA*A*C*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*C*A*G
109	mG*mC*mC*mA*mA*C*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*C*A*G*G
110	mC*mC*mA*mA*mC*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*C*A*G*G*A
111	mC*mA*mA*mC*mA*G*C*C*A*G*C*C*T*G*C*A*G*G*A*G
112	mA*mA*mC*mA*mG*T*C*A*G*C*C*T*G*C*A*G*G*A*G*G
113	mG*mG*mG*mC*mC*A*A*C*A*G*C*C*A*G*C*mC*mU*mG*mC*mA
114	mG*mG*mC*mC*mA*A*C*A*G*C*C*A*G*C*C*mU*mG*mC*mA*mG
115	mG*mC*mC*mA*mA*C*A*G*C*C*A*G*C*C*T*mG*mU*mA*mG*mG
116	mC*mC*mA*mA*mC*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*mC*mA*mG*mG*mA
117	mC*mA*mA*mU*mA*G*C*C*A*G*C*C*T*G*C*mA*mG*mG*mA*mG
118	mA*mA*mC*mA*mG*C*C*A*G*C*C*T*G*C*A*mG*mG*mA*mG*mG

10

20

30

40

50

119	mG*mG*mG*mC*mC*mA*mA*C*A*G*C*C*A*G*mC*mC*mU*mG*mC*mA
120	mGmGmGmCmCmA*A*C*A*G*C*C*A*G*mCmCmUmGmCmA
121	mG*mG*mC*mC*mA*mA*C*A*G*C*C*A*G*C*C*mU*mG*mC*mA*mG
122	mGmGmCmCmA*A*C*A*G*C*C*A*G*C*C*mUmGmCmA*mG
123	mG*mC*mC*mA*mA*C*A*G*C*C*A*G*mC*mC*mU*mG*mC*mA*mG*mG
124	mGmCmCmA*A*C*A*G*C*C*A*G*mCmCmUmGmCmA*mG
125	mGmGmGmCmC*A*A*C*A*G*C*C*A*G*C*mCmUmGmCmA
126	mGmGmCmCmA*A*C*A*G*C*C*A*G*C*C*mUmGmCmA*mG
127	mGmCmCmA*A*C*A*G*C*C*A*G*C*C*T*mGmCmA*mG
128	mCmCmA*mC*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*mCmA*mGmGmA
129	mCmA*mCmA*A*G*C*C*A*G*C*C*T*G*C*mAmGmGmA*mG
130	mAmAmCmA*mG*C*C*A*G*C*C*T*G*C*A*mGmGmA*mG
131	G*SG*SG*SC*SC*SA*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA
132	G*SG*SC*SC*SA*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA*SG
133	G*SC*SC*SA*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA*SG*SG
134	C*SC*SA*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA*SG*SG*SA
135	C*SA*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA*SG*SG*SA*SG
136	A*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA*SG*SG*SA*SG*SG
137	A*T*T*A*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C
138	A*ST*ST*SA*SA*ST*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SC*SA*SC*SC
139	A*ST*ST*SA*SA*ST*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*SA*RT*SC*SA*SC*SC
140	mA*SmU*SmU*SmA*SmA*SmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmC*SmA*SmC*SmC
141	mA*RmU*RmU*RmA*RmA*RmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmC*RmA*RmC*RmC
142	mA*SmU*SmU*SmA*SmA*SmU*SmA*SmA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SC*SA*SC*SC
143	mA*RmU*RmU*RmA*RmA*RmU*RmA*RmA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SC*SA*SC*SC
144	mAmUmUmAmAmUmAmA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SC*SA*SC*SC
145	mAmUmUmAmAmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmCmA*mC
146	mA*SmUmUmAmAmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmCmA*mC*SmC
147	mA*RmUmUmAmAmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmCmA*mC*RmC
148	A*SmUmUmAmAmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmCmA*mC*SC
149	A*mUmUmAmAmU*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*mCmA*mC
150	T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*A*A*A*mA*mA*mG*mU*mC
151	mU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*A*A*mA*mA*mA*mG*mU
152	T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*A*A*mA*mA*mA*mG*mU
153	mA*mU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*A*mA*mA*mA*mA*mG
154	mA*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*A*mA*mA*mA*mA*mG
155	mA*mA*mU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*mA*mA*mA*mA*mA
156	mA*mA*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*mA*mA*mA*mA*mA

10

20

30

40

157	mA*mA*mA*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*mG*mA*mA*mA
158	mA*mA*mA*mU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*mG*mA*mA*mA
159	mil*mA*mA*mA*mU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*mG*mA*mA*mA
160	mil*mA*mA*mA*mU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*mG*mA*mA*mA
161	mA*mU*mA*mA*mA*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*mG*mA*mA
162	mA*mU*mA*mA*mA*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*mC*mA*mG*mA*mA
163	mA*mA*mU*mA*mA*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*mA*mG*mA
164	mA*mA*mU*mA*mA*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*mC*mA*mG*mA
165	mA*mA*mU*mA*mA*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*mC*mC*mA*mG*mA
166	mU*mA*mA*mU*mA*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*mA*mG
167	mU*mA*mA*mU*mA*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*mC*mA*mG
168	mU*mA*mA*mU*mA*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*mC*mC*mA*mG
169	mU*mA*mA*mU*mA*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*mA*mC*mC*mA*mG
170	mU*mU*mA*mA*mU*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*mA
171	mU*mU*mA*mA*mU*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*mC*mA
172	mU*mU*mA*mA*mU*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*mC*mC*mA
173	mU*mU*mA*mA*mU*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*mA*mC*mC*mA
174	mA*mU*mU*mA*mA*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C
175	mA*mU*mU*mA*mA*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*mC
176	mA*mU*mU*mA*mA*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*mC*mC
177	mA*mU*mU*mA*mA*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*mA*mC*mC
178	mU*mA*mU*mU*mA*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C
179	mU*mA*mU*mU*mA*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*mC
180	mU*mA*mU*mU*mA*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*mA*mC
181	mC*mU*mA*mU*mU*A*A*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A
182	mC*mU*mA*mU*mU*A*A*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*mA
183	mA*mC*mU*mA*mU*T*A*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C
184	T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*A*A*A*mAmAmGmU*mC
185	mU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*A*A*mAmAmAmG*mU
186	T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*A*A*mAmAmAmG*mU
187	mA*mU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*A*mAmAmAmA*mG
188	mA*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*A*mAmAmAmA*mG
189	mA*mAmU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*mAmAmAmA*mA
190	mA*mA*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*G*mAmAmAmA*mA
191	mA*mAmA*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*mGmAmAmA*mA
192	mA*mAmAmU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*mGmAmAmA*mA
193	mU*mAmAmAmU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*A*mGmAmA*mA
194	mU*mAmAmAmU*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*mAmGmAmA*mA
195	mA*mUmAmAmA*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*mAmGmAmA*mA
196	mA*mUmAmAmA*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*mCmAmGmAmA*mA
197	mA*mAmUmAmA*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*mAmG*mA
198	mA*mAmUmAmA*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*mCmAmG*mA

10

20

30

40

50

199	mA*mAmUmAmA*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*mCmCmAmG*mA	
200	mU*mAmAmUmA*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*mA*mG	
201	mU*mAmAmUmA*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*mCmA*mG	
202	mU*mAmAmUmA*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*mCmCmA*mG	
203	mU*mAmAmUmA*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*mAmCmCmA*mG	
204	mU*mUmAmAmU*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C*mA	
205	mU*mUmAmAmU*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*mC*mA	
206	mU*mUmAmAmU*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*mCmC*mA	
207	mU*mUmAmAmU*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*mAmCmC*mA	
208	mA*mUmUmAmA*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C	10
209	mA*mUmUmAmA*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*mC	
210	mA*mUmUmAmA*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*mC*mC	
211	mA*mUmUmAmA*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*mAmC*mC	
212	mU*mAmUmUmA*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C	
213	mU*mAmUmUmA*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*mC	
214	mU*mAmUmUmA*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*mA*mC	
215	mC*mUmAmUmU*A*A*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A	
216	mC*mUmAmUmU*A*A*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*mA	
217	mA*mCmUmAmU*T*A*A*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C	
218	G*SG*SG*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST	20
219	G*SG*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*S T*SC	
220	G*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*S T*ST*SC*SC	
221	C*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA	
222	A*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA*SA	
223	C*SA*SA*SG*SG*SC*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA*SA*SA	
224	mG*SmG* SmC* SmA*SmC*SA* SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmA*SmC *SmU*SmU*SmC	
225	mG*RmG*RmC*RmA*RmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmA*RmC*R mU*RmU*RmC	
226	mGmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmUmC	
227	mG*SmG*SmC*SmA*SmC*SmA*SmA*SmG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC* ST*ST*SC	30
228	mG*RmG*RmC*RmA*RmC*RmA*RmA*RmG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC *ST*ST*SC	
229	mGmGmCmAmCmAmAmG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC	
230	mG*RmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmU*RmC	
231	mG*SmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmU*SmC	
232	G*SC*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA	
233	C*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC	
234	A*SG*SG*SG*SC*SA*SC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST	
235	A*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA*SA*SA*SG	
236	A*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA*SA*SA*SG*SG	40

10

20

30

40

237	G*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SA*SC*ST*ST*SC*SC*SA*SA*SA*SG*SG*SC
238	G*SmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmU*SC
239	G*SG*SG*SC*SC*SA*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA
240	G*SG*SC*SC*SA*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA*SG
241	G*SC*SC*SA*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA*SG*SG
242	C*SC*SA*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA*SG*SG*SA
243	C*SA*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA*SG*SG*SA*SG
244	A*SA*SC*SA*SG*SC*RC*SA*SG*SC*SC*ST*SG*SC*SA*SG*SG*SA*SG*SG
245	G*SA*SG*SC*SA*SG*SC*ST*SG*SC*SA*RA*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA
246	A*SG*SC*SA*SG*SC*ST*SG*SC*SA*RA*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA*SC
247	G*SC*SA*SG*SC*ST*SG*SC*SA*RS*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA*SC*SA
248	C*SA*SG*SC*ST*SG*SC*SA*RA*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA*SC*SA*SA
249	A*SG*SC*ST*SG*SC*SA*RA*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA*SC*SA*SA*SC
250	G*SC*ST*SG*SC*SA*RA*SC*SC*ST*SG*SG*SC*SA*SA*SC*SA*SA*SC*SC
251	A*T*T*A*A*T*A*A*A*T*T*G*T*C*A*T*C*A*C*C
252	A*ST*ST*SA*SA*ST*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SC*SA*SC*SC
253	A*ST*ST*SA*SA*ST*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*SA*RT*SC*SA*SC*SC
254	mA*SmU*SmU*SmA*SmA*SmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmC*Sm A*SmC*SmC
255	mA*RmU*RmU*RmA*RmA*RmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmC*R mA*RmC*RmC
256	mA*SmU*SmU*SmA*S mA*S mU*SmA*SmA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SC *SA*SC*SC
257	mA*RmU*RmU*RmA*RmA*RmU *RmA*RmA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SC *SA*SC*SC
258	mAmUmUmAmAmUmAmA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SC*SA*SC*SC
259	mAmUmUmAmAmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmCmAmCmC
260	mA*SmUmUmAmAmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmCmAmC*SmC
261	mA*RmUmUmAmAmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmCmAmC*RmC
262	A*SmUmUmAmAmU*SA*SA*SA*ST*ST*SG*ST*SC*RA*ST*SmCmAmC*SC

10

20

30

【0117】

表1中、"*"は、ステレオランダムホスホロチオエート連結を表し；"*s"は、ホスホロチオエート連結を表し；"*R"は、Rpホスホロチオエート連結を表し；全ての標識されていない連結は、天然のリン酸塩連結であり；塩基前の"m"は、2'-OMeを表し；"d2AP"は、2-アミノプリンを表し；"dDAP"は、2,6-ジアミノプリンを表し；塩基に続く"eo"は、2'-MOEを表し；また、"BrdU"は、プロモデオキシウリジンを表す。

【0118】

表2

40

50

SEQ ID NO.	Sequence 5' -> 3
263	m5C*m5C*G*T*m5C*G*m5C*m5C*m5C*T*T*m5C*A*G*m5C*A*m5C*G*m5C*A
264	m5C*Sm5C*SG*ST*Sm5C*SG*Sm5C*Sm5C*Sm5C*ST*ST*Sm5C*RA*SG*Sm5C*S A*Sm5C*SG*Sm5C*SA
265	m5Ceo*m5Ceo*Geo*Teo*m5Ceo*G*m5C*m5C*m5C*T*T*m5C*A*G*m5C*Aeo*m5 Ceo*Geo*m5Ceo*Aeo
266	m5Ceo*Sm5Ceo*SGeo*STeo*Sm5Ceo*SG*Sm5C*Sm5C*Sm5C*ST*ST*Sm5C*SA*S G*Sm5C*SAeo* Sm5Ceo*SGeo*Sm5Ceo*SAeo
267	m5Ceo*Sm5Ceo*SGeo*STeo*Sm5Ceo*SG*Sm5C*Sm5C*Sm5C*ST*ST*Sm5C*RA*S G*Sm5C*SAeo* Sm5Ceo*SGeo*Sm5Ceo*SAeo
268	m5Ceo*Rm5Ceo*RGeo*RTeo*Rm5Ceo*RG*Sm5C*Sm5C*Sm5C*5T*ST*Sm5C*RA* SG*Sm5C*SAeo* Rm5Ceo*RGeo*Rm5Ceo*RAeo
269	Geo*Teo*m5Ceo*m5Ceo*m5Ceo*T*G*A*A*G*A*T*G*T*m5C*Aeo*Aeo*Teo*Geo* m5Ceo
270	Geo*RTeo*Rm5Ceo*Rm5Ceo*Rm5Ceo*RT*RG*RA*RA*RG*RA*RT*RG*RT*Rm5C *RAeo*RAeo*RTeo* RGeo*Rm5Ceo
271	Geo*STeo*Sm5Ceo*Sm5Ceo*Sm5Ceo*ST*SG*SA*SA*SG*SA*ST*SG*ST*Sm5C*S Aeo*SAeo*STeo* SGeo*Sm5Ceo
272	Geo*RTeo*Rm5Ceo*Rm5Ceo*Rm5Ceo*RT*SG*SA*SA*SG*SA*ST*SG*ST*Sm5C* SAeo*RAeo*RTeo* RGeo*Rm5Ceo
273	Geo*STeo*Sm5Ceo*Sm5Ceo*Sm5Ceo*ST*RG*RA*RA*RG*RA*RT*RG*RT*Rm5C* RAeo*SAeo*STeo* SGeo*Sm5Ceo
274	mG*mG*mC*mA*mC*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*mA*mC*mU*mU*mC
275	mG*SmG*SmC*SmA*SmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmA*SmC*Sm U*SmU*SmC
276	mG*RmG*RmC*RmA*RmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmA*RmC*R mU*RmU*RmC
277	mGmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmUmC
278	mG*RmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmU*RmC
279	mG*SmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmU*SmC
280	G*SmGmCmAmC*SA*SA*SG*SG*SG*SC*SA*SC*RA*SG*SmAmCmUmU*SC
281	G*mGmCmAmC*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*mAmCmUmU*C
282	mG*mGmCmAmC*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*mAmCmUmU*mC
283	Geo*Geom5CeoAeom5Ceo*A*A*G*G*G*C*A*C*A*G*Aeom5CeoTeoTeo*m5Ceo
284	mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU* mC*mU
285	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*SmG*SmG*SmC*Sm A*SmU*SmU*SmU* SmC*SmU
286	mU*RmC*RmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC* RmA*RmU*RmU*RmU* RmC*RmU
287	mU*SmC*RmA*SmA*RmG*SmG*RmA*SmA*RmG*SmA*RmU*SmG*RmG*SmC*R mA*SmU*RmU*SmU* RmC*SmU

10

20

30

40

50

288	mU*RmC*RmA*RmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*SmG*SmG*SmC*S mA*SmU*SmU*RmU* RmC*RmU
289	mU*SmC*SmA*SmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*mG*RmC*R mA*RmU*RmU*SmU* SmC*SmU
290	mU*RmC*RmA*RmA*RmG*RmG*SmA*SmA*RmG*SmA*SmU*RmG*SmG*SmC*R mA*RmU*RmU*RmU* RmC*RmU
291	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*RmA*RmA*SmG*RmA*RmU*SmG*RmG*RmC*S mA*SmU*SmU*SmU* SmC*SmU
292	mU*RmC*RmA*RmA*SmG*SmG*RmA*RmA*SmG*RmA*RmU*RmG*SmG*RmC* RmA*SmU*SmU*RmU* RmC*RmU
293	mU*SmC*SmA*SmA*RmG*RmG*SmA*SmA*RmG*SmA*SmU*SmG*RmG*SmC*S mA*RmU*RmU*SmU* SmC*SmU
294	mU*SmC*RmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC* RmA*RmU*RmU*RmU* RmC*SmU
295	mU*RmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*SmG*SmG*SmC*Sm A*SmU*SmU*SmU* SmC*RmU
296	mU*SmC*RmA*SmA*SmG*RmG*RmA*SmA*SmG*RmA*SmU*SmG*RmG*RmC*R mA*SmU*SmU*SmU* SmC*RmU
297	mU*RmC*SmA*RmA*RmG*SmG*SmA*RmA*RmG*SmA*RmU*RmG*SmG*SmC*S mA*RmU*RmU*RmU* RmC*SmU
298	mU*SmC*SmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*SmG*RmG*RmC* SmA*RmU*SmU*SmU* SmC*SmU
299	mU*RmC*RmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*RmG*SmG*SmC*R mA*SmU*RmU*RmU* RmC*RmU
300	T*C*A*A*G*G*A*A*G*A*T*G*G*C*A*T*T*T*C*T
301	mUmCmAmAmGmGmAmAmGmAmUmGmGmCmAmUmUmCmU
302	T*RC*RA*RA*RG*RG*RA*RA*RG*RA*RT*RG*RG*RC*RA*RT*RT*RT*RC*RT
303	T*SC*SA*SA*SG*SG*SA*SA*SG*SA*ST*SG*SG*SC*SA*ST*ST*ST*SC*ST
304	T*SC*SA*SA*SG*SmGmAmAmGmAmUmGmGmCA*ST*ST*ST*SC*ST
305	mUmCmAmAG*SG*SA*SmAG*SA*ST*SG*SmGC*SA*ST*SmUmUmCmU
306	T*SmCA*SmAG*SmGA*SmAG*SmAT*SmGG*SmCA*SmUT*SmUC*SmU
307	mUC*SmAA*SmGG*SmAA*SmGA*SmUG*SmGC*SmAT*SmUT*SmCmU
308	T*SC*SmAmAG*SG*SmAmAG*SA*ST*SmGmGC*SA*SmUmUT*SC*SmU
309	T*SC*SA*SmAmGmGA*SA*SmGmAmUG*SG*SmCmAmUT*ST*SC*SmU
310	T*SC*SA*SA*SmGmGmAmAG*SA*ST*SmGmGmCmAT*ST*ST*SC*SmU
311	T*SC*SA*SmAG*SG*SA*SmAG*SA*ST*SmGG*SC*SA*SmUT*ST*SC*SmU
312	mUmCmAmAG*SG*SA*SA*SG*SmAmUmGmGmCA*ST*ST*ST*SC*SmU
313	T*SC*SmAmAmGmGmAmAmGmAT*SmGmGC*SmAT*ST*ST*SC*SmU
314	T*C*A*A*G*mGmAmAmGmAmUmGmGmCA*T*T*T*C*T
315	mUmCmAmAG*G*A*mAG*A*T*G*mGC*A*T*mUmUmCmU
316	T*mCA*mAG*mGA*mAG*mAT*mGG*mCA*mUT*mUC*mU
317	mUC*mAA*mGG*mAA*mGA*mUG*mGC*mAT*mUT*mCmU
318	T*C*mAmAG*G*mAmAG*A*T*mGmGC*A*mUmUT*C* mU

10

20

30

40

50

319	T*C*A*mAmGmGA*A*mGmAmUG*G*mCmAmUT*T*C*mU
320	T*C*A*A*mGmGmAmAG*A*T*mGmGmCmAT*T*T*C*mU
321	T*C*A*mAG*G*A*mAG*A*T*mGG*C*A*mUT*T*C* mU
322	mUmCmAmAG*G*A*A*G*mAmUmGmGmCA*T*T*T*C*mU
323	T*C*mAmAmGmGmAmAmGmAT*mGmGC*mAT*T*T*C*mU
324	fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*fG*fA*fU*fG*fG* fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
325	fU*fC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*fU*mG*mG* fC*mA*fU*fU*fU*fC*fU
326	mU*mC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*fG*fA*mU*fG*fG* mC*fA*mU*mU*mU*mC*mU
327	mU*fC*mA*fA*mG*fG*mA*fA*mG*fA*mU*fG*mG* fC*mA*fU*mU*fU*mC*fU
328	mU*mC*mA*mA*mG*mG*fA*fA*fG*fA*fU*fG*fG* fC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
329	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG* mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
330	mU*fC*mA*mA*fG*fG*mA*mA*fG*mA*mU*fG*fG* fC*mA*mU*mU*mU*fC*mU
331	fU*mC*fA*fA*mG*mG*fA*fA*mG*fA*fU*mG*mG* mC*fA*fU*fU*fU*mC*fU
332	mUmCmAmAmGmG*SmA*SmA*RmG*SmA*SmU*RmG*SmG*SmC*RmAmUmUm UmCmU
333	mUmCmAmAmGmG*RmA*RmA*SmG*RmA*RmU*SmG*RmG*RmC*SmAmUmUm UmCmU
334	mU*SmCmAmAmGmG*SmA*SmA*RmG*SmA*SmU*RmG*SmG*SmC*RmAmUmU mUmC*SmU
335	mU*RmCmAmAmGmG*RmA*RmA*SmG*RmA*RmU*SmG*RmG*RmC*SmAmUm UmUmC*RmU
336	mU*RmCmAmAmGmG*SmA*SmA*RmG*SmA*SmU*RmG*SmG*SmC*RmAmUmU mUmC*RmU
337	mU*SmCmAmAmGmG*RmA*RmA*SmG*RmA*RmU*SmG*RmG*RmC*SmAmUmU mUmC*SmU
338	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*RmG*SmA*SmU*RmG*SmG*SmC*R mA*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
339	mU*SmC*RmA*SmA*SmG*RmG*SmA*SmA*RmG*SmA*SmU*RmG*SmG*SmC*R mA*SmU*SmU*RmU*SmC*SmU
340	mU*RmC*SmA*RmA*RmG*SmG*RmA*RmA*SmG*RmA*RmU*SmG*RmG*RmC* SmA*RmU*RmU*SmU*RmC*RmU
341	mUmCmAmAmGmG*SmA*SmAmG*SmA*SmUmG*SmG*SmCmAmUmUmUmCmU
342	mU*SmCmAmAmGmG*SmA*SmAmG*SmA*SmUmG*SmG*SmCmAmUmUmUmC* SmU
343	mU*SmCmAmAmGmGmAmAmGmAmUmGmGmCmAmUmUmUmC*SmU
344	mU*SmC*SmAmAmGmGmAmAmGmAmU*SmGmGmC*SmAmU*SmU*SmU*SmC* SmU
345	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmGmAmAmGmAmUmGmGmCmA*SmU*SmU*SmU*S mC*SmU
346	mU*RmC*RmA*RmA*RmG*RmGmAmAmGmAmUmGmGmCmA*RmU*RmU*RmU *RmC*RmU
347	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC* RA*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU

10

20

30

40

50

348	mU*RmC*RmA*RmA*RmG*RmG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*SmG*SmG*SmC*S mA*RmU*RmU*RmU*RmC*RmU
349	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*RmG*RmG*RmC*R A*RmU*RmU*RmU*RmC*RmU
350	mU*RmC*RmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*SmG*SmG*SmC* SmA*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
351	mU*RmC*RmA*RmA*RmG*SmG*SmA*RmA*SmG*SmA*RmU*SmG*SmG*RmC*R mA*RmU*RmU*RmU*RmC*RmU
352	mU*RmC*RmA*RmA*RmG*RmG*RmA*SmA*SmG*RmA*SmU*SmG*RmG*SmC*S mA*RmU*RmU*RmU*RmC*RmU
353	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SfA*SfU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*Sf U*SfC*SfU
354	fU*RfC*RfA*RfA*RfG*RfG*RfA*RfA*RfG*RfA*RfU*RfG*RfG*RfC*RfA*RfU*RfU *RfU*RfC*RfU
355	fU*RfC*RfA*RfA*RfG*RfG*SfA*SfA*RfG*SfA*SfU*RfG*SfG*SfC*RfA*RfU*RfU* RfU*RfC*RfU
356	fU*SfC*RfA*RfA*RfG*RfG*RfA*RfA*RfG*RfA*RfU*RfG*RfG*RfC*RfA*RfU*RfU *RfU*RfC*SfU
357	fU*SfC*SfA*RfA*RfG*RfG*RfA*RfA*RfG*RfA*RfU*SfG*RfG*RfC*SfA*RfU*SfU* SfU*SfC*SfU
358	fU*SfC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmA*SfU*SmG*SmG*SfC*SmA*S fU*SfU*SfU*SfC*SfU
359	fU*RfC*RmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RfU*RmG*RmG*RfC*Rm A*RfU*RfU*RfU*RfC*RfU
360	fU*RfC*RmA*RmA*RmG*RmG*SmA*SmA*RmG*SmA*SfU*RmG*SmG*SfC*RmA *RfU*RfU*RfU*RfC*RfU
361	fU*SfC*RmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RfU*RmG*RmG*RfC*Rm A*RfU*RfU*RfU*RfC*SfU
362	fU*SfC*SmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RfU*SmG*RmG*RfC*SmA *RfU*SfU*SfU*SfC*SfU
363	mU*SmC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SfA*SmU*SfG*SfG*SmC*SfA*SmU*S mU*SmU*SmC*SmU
364	mU*RmC*RfA*RfA*RfG*RfG*RfA*RfA*RfG*RfA*RmU*RfG*RfG*RmC*RfA*RmU *RmU*RmU*RmC*RmU
365	mU*RmC*RfA*RfA*RfG*RfG*SfA*SfA*RfG*SfA*SmU*RfG*SfG*SmC*RfA*RmU* RmU*RmU*RmC*RmU
366	mU*SmC*RfA*RfA*RfG*RfG*RfA*RfA*RfG*RfA*RmU*RfG*RfG*RmC*RfA*RmU *RmU*RmU*RmC*SmU
367	mU*SmC*SfA*RfA*RfG*RfG*RfA*RfA*RfG*RfA*RmU*SfG*RfG*RmC*SfA*RmU* SmU*SmU*SmC*SmU
368	mU*SfC*SmA*SfA*SmG*SfG*SmA*SfA*SmG*SfA*SmU*SfG*SmG*SfC*SmA*SfU *SmU*SfU*SmC*SfU
369	mU*RfC*RmA*RfA*RmG*RfG*RmA*RfA*RmG*RfA*RmU*RfG*RmG*RfC*RmA* RfU*RmU*RfU*RmC*RfU

10

20

30

40

50

370	mU*RfC*RmA*RfA*RmG*RfG*SmA*SfA*RmG*SfA*SmU*RfG*SmG*SfC*RmA*RfU*RmU*RfU*RmC*RfU
371	mU*SfC*RmA*RfA*RmG*RfG*RmA*RfA*RmG*RfA*RmU*RfG*RmG*RfC*RmA*RfU*RmU*RfU*RmC*SfU
372	mU*SfC*SmA*RfA*RmG*RfG*RmA*RfA*RmG*RfA*RmU*SfG*RmG*RfC*SmA*RfU*SmU*SfU*SmC*SfU
373	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SfA*SfA*SfG*SfA*SfU*SfG*SfG*SfC*SmA*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
374	mU*RmC*RmA*RmA*RmG*RmG*RfA*RfA*RfG*RfA*RfU*RfG*RfG*RfC*RmA*RmU*RmU*RmU*RmC*RmU
375	mU*RmC*RmA*RmA*RmG*RmG*SfA*SfA*RfG*SfA*SfU*RfG*SfG*SfC*RmA*RmU*RmU*RmU*RmC*RmU
376	mU*SmC*RmA*RmA*RmG*RmG*RfA*RfA*RfG*RfA*RfU*RfG*RfG*RfC*RmA*RmU*RmU*RmU*RmC*SmU
377	mU*SmC*SmA*RmA*RmG*RmG*RfA*RfA*RfG*RfA*RfU*SfG*RfG*RfC*SmA*RmU*SmU*SmU*SmC*SmU
378	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*SmG*SmG*SmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
379	fU*RfC*RfA*RfA*RfG*RfG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*RfA*RfU*RfU*RfU*RfC*RfU
380	fU*RfC*RfA*RfA*RfG*RfG*SmA*SmA*RmG*SmA*SmU*RmG*SmG*SmC*RfA*RfU*RfU*RfU*RfC*RfU
381	fU*SfC*RfA*RfA*RfG*RfG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*RfA*RfU*RfU*RfU*RfC*SfU
382	fU*SfC*SfA*RfA*RfG*RfG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*SmG*RmG*RmC*SfA*RfU*SfU*SfU*SfC*SfU
383	mU*SfC*SmA*SmA*SfG*SfG*SmA*SmA*SfG*SmA*SmU*SfG*SfG*SfC*SmA*SmU*SmU*SmU*SfC*SmU
384	mU*RfC*RmA*RmA*RfG*RfG*RmA*RmA*RfG*RmA*RmU*RfG*RfG*RfC*RmA*RmU*RmU*RmU*RfC*RmU
385	mU*RfC*RmA*RmA*RfG*RfG*SmA*SmA*RfG*SmA*SmU*RfG*SfG*SfC*RmA*RmU*RmU*RmU*RfC*RmU
386	mU*SfC*RmA*RmA*RfG*RfG*RmA*RmA*RfG*RmA*RmU*RfG*RfG*RfC*RmA*RmU*RmU*RmU*RfC*SmU
387	mU*SfC*SmA*RmA*RfG*RfG*RmA*RmA*RfG*RmA*RmU*SfG*RfG*RfC*SmA*RmU*SmU*SmU*SfC*SmU
388	fU*SmC*SfA*SfA*SmG*SmG*SfA*SfA*SmG*SfA*SfU*SmG*SmG*SmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SmC*SfU
389	fU*RmC*RfA*RfA*RmG*RmG*RfA*RfA*RmG*RfA*RfU*RmG*RmG*RmC*RfA*RfU*RfU*RfU*RmC*RfU
390	fU*RmC*RfA*RfA*RmG*RmG*SfA*SfA*RmG*SfA*SfU*RmG*SmG*SmC*RfA*RfU*RfU*RfU*RmC*RfU
391	fU*SmC*RfA*RfA*RmG*RmG*RfA*RfA*RmG*RfA*RfU*RmG*RmG*RmC*RfA*RfU*RfU*RfU*RmC*SfU

10

20

30

40

50

392	fU*SmC*SfA*RfA*RmG*RmG*RfA*RfA*RmG*RfA*RfU*SmG*RmG*RmC*SfA*RfU*SfU*SfU*SmC*SfU
393	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*SmG*SmG*SmC*SmA*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
394	mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
395	mG*mG*mC*mC*mA*mA*mA*mC*mC*mU*mC*mG*mG*mC*mU*mU*mA*mC*mC*mU
396	mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG
397	mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU*mG*mA*mG*mU*mA*mG*mG*mA*mG
398	mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU*mG*mA*mG*mU*mA*mG*mG*mA
399	mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU*mG*mA*mG*mU*mA*mG*mG
400	mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU*mG*mA*mG*mU*mA*mG
401	mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU*mG
402	mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU
403	mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC
404	mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU
405	mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG
406	mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC
407	mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA
408	mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA
409	mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU
410	mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG
411	mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA
412	mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG
413	mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA

10

20

30

40

50

414	mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC
415	mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC
416	mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA
417	mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG
418	mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU
419	mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG
420	mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU
421	mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU
422	mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG
423	mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG
424	mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC
425	mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA
426	mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC
427	mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC
428	mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA
429	mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA
430	mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG
431	mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA
432	mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU
433	mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU
434	mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC
435	mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU

10

20

30

40

50

436	mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU
437	mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC
438	mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA
439	mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA
440	mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG
441	mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG
442	mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU
443	mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG
444	mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA
445	mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
446	mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU
447	mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA
448	mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG
449	mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU
450	mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG
451	mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG
452	mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU
453	mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA
454	mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC
455	mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA
456	mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA
457	mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC

10

20

30

40

50

458	mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC
459	mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU
460	mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG
461	mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA
462	mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG
463	mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA
464	mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG
465	mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU
466	mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC
467	mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU
468	mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA
469	mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA
470	mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA
471	mG*mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG
472	mC*mG*mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU
473	mU*mC*mG*mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU
474	mG*mU*mC*mG*mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG
475	mA*mG*mU*mC*mG*mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG
476	mC*mA*mG*mU*mC*mG*mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC
477	mA*mA*mA*mG*mC*mC*mA*mG*mU*mC*mG*mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA
478	mG*mA*mA*mA*mG*mC*mC*mA*mG*mU*mC*mG*mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC
479	mG*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mA*mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC*mU*mG*mU*mG*mA*mU

10

20

30

40

50

480	mG*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mA *mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC*mU*mG*mU*mG*mA
481	mA*mA*mG*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mA*mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC*mU*mG*mU
482	mC*mA*mA*mG*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mA*mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC*mU*mG
483	mU*mC*mA*mA*mG*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mA*mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC*mU
484	mC*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mA*mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC
485	mC*mU*mU*mG*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mC*mA*mG*mA*mG*mA*mA*mA*mG*mC*mC*mA*mG*mU*mC
486	mA*mU*mA*mA*mC*mU*mU*mG*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mC*mA*mG*mA*mG*mA*mA*mA*mG*mC*mC
487	mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU*mG*mA*mG*mU*mA*mG*mG*mA*mG
488	mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU*mG*mA*mG*mU*mA*mG*mG*mA
489	mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU*mG*mA*mG*mU*mA*mG*mG
490	mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU*mG*mA*mG*mU*mA*mG
491	mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU*mG
492	mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC*mU
493	mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU*mC
494	mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG*mU
495	mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mA*mG
496	mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA*mC
497	mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA*mA
498	mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU*mA
499	mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mU
500	mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA*mG
501	mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG*mA

10

20

30

40

50

502	mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA*mG
503	mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mA
504	mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC*mC
505	mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA*mC
506	mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG*mU*mC*mA
507	mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU*mG
508	mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG*mU
509	mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU*mG
510	mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU*mU
511	mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG*mU
512	mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG*mG
513	mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC*mA*mG
514	mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA*mC
515	mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC*mA
516	mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC*mC
517	mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA*mC
518	mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA*mA
519	mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG*mU*mA
520	mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA*mG
521	mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU*mA
522	mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU*mU
523	mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC*mU

10

20

30

40

50

524	mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU*mU*mC*mC
525	mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU*mU
526	mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mG*mU
527	mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC
528	mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA*mG*mA
529	mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG*mA
530	mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG*mG
531	mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG
532	mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU
533	mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG
534	mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA
535	mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
536	mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU
537	mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA
538	mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG
539	mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU
540	mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mG
541	mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU*mC*mA*mA*mG
542	mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA*mU
543	mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC*mA
544	mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA*mC
545	mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA*mA

10

20

30

40

50

546	mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC*mA
547	mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC*mC
548	mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU*mC
549	mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG*mU*mA*mC*mC*mU
550	mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA*mG*mC*mA*mG*mG
551	mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG*mA
552	mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA*mG
553	mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG*mC*mC*mA
554	mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU*mG
555	mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC*mU
556	mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU*mC
557	mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA*mU
558	mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA*mA
559	mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA*mA
560	mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG*mA
561	mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU*mG
562	mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU*mU
563	mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG*mU
564	mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG*mG
565	mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC*mG
566	mG*mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA*mA*mG*mC*mC*mC
567	mC*mA*mG*mU*mC*mG*mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC*mA

10

20

30

40

50

568	mC*mC*mA*mG*mU*mC*mG*mG*mU*mA*mA*mG*mU*mU*mC*mU*mG*mU*mC*mC
569	mC*mC*mA*mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC*mU*mG*mU*mG*mA*mU
570	mC*mC*mC*mA*mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC*mU*mG*mU*mG*mA
571	mC*mA*mC*mC*mC*mA*mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC*mU*mG*mU
572	mU*mC*mA*mC*mC*mC*mA*mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC*mC*mU*mG
573	mG*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mA*mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC*mU
574	mG*mG*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mA*mC*mC*mA*mU*mC*mA*mC*mC*mC*mU*mC
575	mU*mC*mA*mA*mG*mC*mA*mG*mA*mG*mA*mA*mA*mG*mC*mC*mA*mG*mU*mC
576	mU*mU*mG*mA*mU*mC*mA*mA*mG*mC*mA*mG*mA*mG*mA*mA*mA*mG*mC*mC
577	mC*mA*mA*mA*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU*mA*mG*mU*mU*mU*mG
578	mG*mC*mA*mA*mA*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
579	fG*fC*fA*fA*fA*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
580	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*fU*fU*fU*fC*fU
581	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*fU*fU*fC*fU
582	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*fU*fC*fU
583	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*fU*fC*fU
584	fU*mC*mA*mA*mG*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*fU
585	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
586	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
587	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
588	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
589	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
590	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
591	fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*fG*fA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
592	mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*fU*fG*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
593	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
594	mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU

10

20

30

40

50

595	mU*RmC*RmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*RmA*RmU*RmU*RmU*RmC*RmU
596	mU*SmC*RmA*SmA*RmG*SmG*RmA*SmA*RmG*SmA*RmU*SmG*RmG*SmC*RmA*SmU*RmU*SmU*RmC*SmU
597	mU*RmC*RmA*RmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*SmG*SmG*SmC*SmA*SmU*SmU*RmU*RmC*RmU
598	mU*SmC*SmA*SmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*RmA*RmU*RmU*SmU*SmC*SmU
599	mU*RmC*RmA*RmA*RmG*RmG*SmA*SmA*RmG*SmA*SmU*RmG*SmG*SmC*RmA*RmU*RmU*RmU*RmC*RmU
600	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*RmA*RmA*SmG*RmA*RmU*SmG*RmG*RmC*SmA*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
601	mU*RmC*RmA*RmA*SmG*SmG*RmA*RmA*SmG*RmA*RmU*RmG*SmG*RmC*RmA*SmU*SmU*RmU*RmC*RmU
602	mU*SmC*SmA*SmA*RmG*RmG*SmA*SmA*RmG*SmA*SmU*SmG*RmG*SmC*SmA*RmU*RmU*SmU*SmC*SmU
603	mU*SmC*RmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*RmA*RmU*RmU*RmU*RmC*SmU
604	mU*RmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*SmG*SmG*SmC*SmA*SmU*SmU*SmU*SmC*RmU
605	mU*SmC*RmA*SmA*SmG*RmG*RmA*SmA*SmG*RmA*SmU*SmG*RmG*RmC*RmA*SmU*SmU*SmU*SmC*RmU
606	mU*RmC*SmA*RmA*RmG*SmG*SmA*RmA*RmG*SmA*RmU*RmG*SmG*SmC*SmA*RmU*RmU*RmU*RmC*SmU
607	mU*SmC*SmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*SmG*RmG*RmC*SmA*RmU*SmU*SmU*SmC*SmU
608	mU*RmC*RmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*RmG*SmG*SmC*RmA*SmU*RmU*RmU*RmC*RmU
609	fG*fG*fC*fC*fA*fA*fA*fC*fC*fU*fC*fG*fG*fC*fU*fU*fA*fC*fC*fU
610	mG*mG*fC*fC*mA*mA*mA*fC*fC*fU*fC*mG*mG*fC*fU*fU*mA*fC*fC*fU
611	fG*fG*mC*mC*fA*fA*fA*mC*mC*mU*mC*fG*fG*mC*mU*mU*fA*mC*mC*mU
612	mG*fG*mC*fC*mA*fA*mA*fC*mC*fU*mC*fG*mG*fC*mU*fU*mA*fC*mC*fU
613	mG*mG*mC*mC*mA*mA*fA*fC*fC*fU*fC*fG*fG*fC*mU*mU*mA*mC*mC*mU
614	fG*fG*fC*fC*fA*fA*mA*mC*mC*mU*mC*mG*mG*mC*fU*fU*fA*fC*fC*fU
615	fG*fG*fC*fC*mA*mA*mA*fC*fC*mU*fC*fG*fG*fC*mU*mU*mA*fC*fC*mU
616	mG*mG*mC*mC*fA*fA*fA*mC*mC*fU*mC*mG*mG*mC*fU*fU*fA*mC*mC*fU
617	fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*fG*fA*fU*fG*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
618	fU*fC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*fU*mG*mG*fC*mA*fU*fU*fU*fC*fU
619	mU*mC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*fG*fA*mU*fG*fG*mC*fA*mU*mU*mU*mC*mU
620	mU*fC*mA*fA*mG*tG*mA*fA*mG*fA*mU*fG*mG*fC*mA*fU*mU*fU*mC*fU
621	mU*mC*mA*mA*mG*mG*fA*fA*fG*fA*fU*fG*fG*fC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
622	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
623	mU*fC*mA*mA*fG*fG*mA*mA*fG*mA*mU*fG*fG*fC*mA*mU*mU*mU*fC*mU
624	fU*mC*fA*fA*mG*mG*fA*fA*mG*fA*fU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*mC*fU

10

20

30

40

50

625	G*G*C*C*A*A*A*C*C*T*C*G*G*C*T*T*A*C*C*T
626	mGmGmCmCmAmAmCmCmUmCmGmGmCmUmUmAmCmCmU
627	G*RG*RC*RC*RA*RA*RA*RC*RC*RT*RC*RG*RG*RC*RT*RT*RA*RC*RC*RT
628	G*SG*SC*SC*SA*SA*SA*SC*SC*ST*SC*SG*SG*SC*ST*ST*SA*SC*SC*ST
629	G*SG*SC*SC*SA*SmAmAmCmCmUmCmGmGmCT*ST*SA*SC*SC*ST
630	mGmGmCmCA*SA*SA*SmCC*ST*SC*SG*SmGC*ST*ST*SmAmCmCmU
631	G*SmGC*SmCA*SmAA*SmCC*SmUC*SmGG*SmCT*SmUA*SmCC*SmU
632	mGG*SmCC*SmAA*SmAC*SmCT*SmCG*SmGC*SmUT*SmAC*SmCmU
633	G*SG*SmCmCA*SA*SmAmCC*ST*SC*SmGmGC*ST*SmUmAC*SC*SmU
634	G*SG*SC*SmCmAmAA*SC*SmCmUmCG*SG*SmCmUmUA*SC*SC*SmU
635	G*SG*SC*SC*SmAmAmAmCC*ST*S C*SmGmGmCmUT*SA*SC*SC*SmU
636	G*SG*SC*SmCA*SA*SA*SmCC*ST *SC*SmGG*SC*ST*SmUA*SC*SC* SmU
637	mGmGmCmCA*SA*SA*SC*SC*SmUm CmGmGmCT*ST*SA*SC*SC*SmU
638	G*G*C*C*A*mAmAmCmCmUmCmGmG mCT*T*A*C*C*T
639	mGmGmCmCA*A*A*mCC*T*C*G*mG C*T*T*mAmCmCmU
640	G*mGC*mCA*mAA*mCC*mUC*mGG* mCT*mUA*mCC*mU
641	mGG*mCC*mAA*mAC*mCT*mCG*mG C*mUT*mAC*mCmU
642	G*G*mCmCA*A*mAmCmCT*C*mGmG C*T*mUmAC*C*mU
643	G*G*C*mCmAmAA*C*mCmUmCG*G* mCmUmUA*C*C*mU
644	G*G*C*C*mAmAmAmCC*T*C*mGmG mCmUT*A*C*C*mU
645	G*G*C*mCA*A*A*mCC*T*C*mGG* C*T*mUA*C*C*mU
646	mGmGmCmCA*A*A*C*C*mUmCmGmG mCT*T*A*C*C*mU
647	G*G*mCmCmAmAmAmCmCmUC*mGmG C*mUT*A*C*C*mU
648	mG*mG*mC*mC*mA*mAmAmCmCmUm CmGmGmCmU*mU*mA*mC*mC*mU
649	mGmGmCmCA*mA*mA*mCmC*mU*m C*mG*mGmC*mU*mU*mAmCmCmU
650	mG*mGmC*mCmA*mAmA*mCmC*mUm C*mGmG*mCmU*mUmA*mCmC*mU
651	mGmG*mCmC*mAmA*mAmC*mCmU*m CmG*mGmC*mUmU*mAmC*mCmU
652	mG*mG*mCmCmA*mA*mAmCmCmU*m C*mGmGmC*mU*mUmAmC*mC*mU
653	mG*mG*mC*mCmAmAmA*mC*mCmUm CmG*mG*mCmUmUmA*mC*mC*mU
654	mG*mG*mC*mC*mAmAmAmCmC*mU* mC*mGmGmCmUmU*mA*mC*mC*mU
655	mG*mG*mC*mCmA*mA*mA*mCmC*mU*mC*mGmG*mC*mU*mUmA*mC*mC *mU
656	mGmGmCmCA*mA*mA*mC*mC*mUmCmGmGmCmU*mU*mA*mC*mC*mU
657	mG*mG*mCmCmAmAmAmCmCmUmC*m GmGmC*mUmU*mA*mC*mC*mU
658	LOOI*mG*mG*mC*mC*mA*mA*mA*mC*mC*mU*mC*mG*mG*mC*mU*mU *mA*mC*mC*mU
659	LOOI*mG*mG*mC*mC*mA*mA*mA*mC*mC*mU*mC*mG*mG*mC*mU*mU *mA*mC*mC*mU*mG*mA*mA*mA*m G*SG*SmCmCmAmAmAmCmCmUC*Sm
660	G*SG*SmCmCmAmAmAmCmCmUC*SmGmGC*SmUT*SA*SC*SC*SmU
661	T*C*A*A*G*G*A*A*G*A*T*G*G* C*A*T*T*T*C*T
662	mUmCmAmAmGmGmAmAmGmAmUmGmG mCmAmUmUmUmCmU
663	T*RC*RA*RA*RG*RG*RA*RA*RG* RA*RT*RG*RG*RC*RA*RT*RT*RT *RC*RT

10

20

30

40

50

664	T*SC*SA*SA*SG*SG*SA*SA*SG* SA*ST*SG*SG*SC*SA*ST*ST*ST *SC*ST
665	T*SC*SA*SA*SG*SmGmAmAmGmAmUmGmGmCA*ST*ST*ST*SC*ST
666	mUmCmAmAG*SG*SA*SmAG*SA*ST*SG*SmGC*SA*ST*SmUmUmCmU
667	T*SmCA*SmAG*SmGA*SmAG*SmAT*SmGG*SmCA*SmUT*SmUC*SmU
668	mUC*SmAA*SmGG*SmAA*SmGA*SmUG*SmGC*SmAT*SmUT*SmCmU
669	T*SC*SmAmAG*SG*SmAmAG*SA*ST*SmGmGC*SA*SmUmUT*SC*SmU
670	T*SC*SA*SmAmGmGA*SA*SmGmAmUG*SG*SmCmAmUT*ST*SC*SmU
671	T*SC*SA*SA*SmGmGmAmAG*SA*ST*SmGmGmCmAT*ST*ST*SC*SmU
672	T*SC*SA*SmAG*SG*SA*SmAG*SA*ST*SmGG*SC*SA*SmUT*ST*SC* SmU
673	mUmCmAmAG*SG*SA*SA*SG*SmAm UmGmGmCA*ST*ST*ST*SC*SmU
674	T*SC*SmAmAmGmGmAmAmGmAT*Sm GmGC*SmAT*ST*ST*SC*SmU
675	T*C*A*A*G*mGmAmAmGmAmUmGmG mCA*T*T*T*C*T
676	mUmCmAmAG*G*A*mAG*A*T*G*mGC*A*T*mUmUmCmU
677	T*mCA*mAG*mGA*mAG*mAT*mGG*mCA*mUT*mUC*mU
678	mUC*mAA*mGG*mAA*mGA*mUG*mGC*mAT*mUT*mCmU
679	T*C*mAmAG*G*mAmAG*A*T*mGmGC*A*mUmUT*C*mU
680	T*C*A*mAmGmGA*A*mGmAmUG*G*mCmAmUT*T*C*mU
681	T*C*A*A*mGmGmAmAG*A*T*mGmG mCmAT*T*T*C*mU
682	T*C*A*mAG*G*A*mAG*A*T*mGG*C*A*mUT*T*C*mU
683	mUmCmAmAG*G*A*A*G*mAmUmGmGmCA*T*T*T*C*mU
684	T*C*mAmAmGmGmAmAmGmAT*mGmGC*mAT*T*T*C*mU
685	mU*mC*mA*mA*mG*mGmAmAmGmAmUmGmGmCmA*mU*mU*mU*mC*mU
686	mUmCmAmAmG*mG*mA*mAmG*mA*mU*mG*mGmC*mA*mU*mUmUmCmU
687	mU*mCmA*mAmG*mGmA*mAmG*mAmU*mGmG*mCmA*mUmU*mUmC*mU
688	mUmC*mAmA*mGmG*mAmA*mGmA*mUmG*mGmC*mAmU*mUmU*mCmU
689	mU*mC*mAmAmG*mG*mAmAmG*mA*mU*mGmGmC*mA*mUmUmU*mC*mU
690	mU*mC*mA*mAmGmGmA*mA*mGmAmUmG*mG*mCmAmUmU*mU*mC*mU
691	mU*mC*mA*mA*mGmGmAmAmG*mA*mU*mGmGmCmAmU*mU*mU*mC*mU
692	mU*mC*mA*mAmG*mG*mA*mAmG*mA*mU*mGmG*mC*mA*mUmU*mU*mC *mU
693	mUmCmAmAmG*mG*mA*mA*mG*mAmUmGmGmCmA*mU*mU*mU*mC*mU
694	mU*mC*mAmAmGmGmAmAmGmAmU*mGmGmC*mAmU*mU*mU*mC*mU
695	rArGrArArUrGrCrCrArUrCrU rUrCrCrUrUrGrA
696	mU*SmC*SmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC* RmA*RmU*RmU*RmU*SmC*SmU
697	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC* RmA*RmU*SmU*SmU*SmC*SmU
698	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC* RmA*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
699	mU*SmCmAmAmGmGmAmAmGmAmUmG mGmCmAmUmUmUmC*SmU
700	mU*SmC*SmAmAmGmGmAmAmGmAmU mGmGmCmAmUmUmU*SmC*SmU
701	mU*SmC*SmA*SmAmGmGmAmAmGmA mUmGmGmCmAmUmU*SmU*SmC*SmU

10

20

30

40

50

702	mU*SmC*SmA*SmA*SmGmGmAmAmG mAmUmGmGmCmAmU*SmU*SmU*SmC*SmU
703	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmGmAmA mGmAmUmGmGmCmA*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
704	mU*mCmAmAmGmGmAmAmGmAmUmGm GmCmAmUmUmUmC*mU
705	mU*mC*mAmAmGmGmAmAmGmAmUmG mGmCmAmUmUmU*mC*mU
706	mU*mC*mA*mAmGmGmAmAmGmAmUm GmGmCmAmUmU*mU*mC*mU
707	mU*mC*mA*mA*mGmGmAmAmGmAmU mGmGmCmAmU*mU*mU*mC*mU
708	mU*mC*mA*mA*mG*mGmAmAmGmAm UmGmGmCmA*mU*mU*mU*mC*mU
709	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAmAmGmAmUmGmGmC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
710	fU*fC*fA*fA*fG*mGmAmAmGmAmUmGmGmCmA*fU*fU*fU*fC*fU
711	fU*fC*fA*fA*fGmGmAmAmGmAmUmGmGmCmAmU*fU*fU*fC*fU
712	fU*fC*fA*fAmAmGmGmAmAmGmAmUmGmGmCmAmUmU*fU*fC*fU
713	fU*fC*mAmAmGmGmAmAmGmAmUmGmGmCmAmUmUmU*fC*fU
714	fU*mCmAmAmGmGmAmAmGmAmUmGmGmCmAmUmUmUmC*fU
715	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAmAmGmAmUmGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
716	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SmGmAmA mGmAmUmGmGmCmA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
717	fU*SfC*SfA*SfA*SmGmGmAmAmG mAmUmGmGmCmAmU*SfU*SfU*SfC*SfU
718	fU*SfC*SfA*SmAmGmGmAmAmGmA mUmGmGmCmAmUmU*SfU*SfC*SfU
719	fU*SfC*SmAmAmGmGmAmAmGmAmU mGmGmCmAmUmUmU*SfC*SfU
720	fU* SmCmAmAmGmGmAmAmGmAmUmG mGmCmAmUmUmUmC*SfU
721	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
722	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*RmA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
723	fU*SfC*SfA*SfA*SmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*RmA*RmU*SfU*SfU*SfC*SfU
724	fU*SfC*SfA*SmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*RmA*RmU*RmU*SfU*SfC*SfU
725	fU*SfC*SmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*RmA*RmU*RmU*RmU*SfC*SfU
726	fU*SmC*RmA*RmA*RmG*RmG*RmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*RmA*RmU*RmU*RmU*RmC*SfU
727	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
728	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmG*RmA*RmU*RmG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
729	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmA*RmU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
730	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfAmGmAmUmGmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
731	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmGmAmUmG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU

10

20

30

40

50

732	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAmU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU *SfU*SfC*SfU
733	fU*SfC*SfA*SfA*StG*SfG*SfA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*fC*SfA*SfU*SfU*SfU*S fC*SfU
734	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*S mA*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
735	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*SmC*S mA*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
736	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*RmA*RmU*RmG*SmG*SmC*S mA*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
737	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmA*RmU*SmG*SmG*SmC*Sm A*SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
738	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA *mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*SmA* SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
739	LOOl*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA* mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU *mU*mU*mC*mU
740	Mod013L001*mU*mC*mA*mA*mG* mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC *mA*mU*mU*mU*mC*mU
741	Mod014L001*mU*mC*mA*mA*mG* mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC *mA*mU*mU*mU*mC*mU
742	Mod005L001*mU*mC*mA*mA*mG* mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC *mA*mU*mU*mU*mC*mU
743	Mod015L001*mU*mC*mA*mA*mG* mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC *mA*mU*mU*mU*mC*mU
744	Mod016L001*mU*mC*mA*mA*mG* mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC *mA*mU*mU*mU*mC*mU
745	Mod017L001*mU*mC*mA*mA*mG* mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC *mA*mU*mU*mU*mC*mU
746	Mod018L001*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC *mA*mU*mU*mU*mC*mU
747	Mod019L001*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC *mA*mU*mU*mU*mC*mU
748	Mod006L001*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC *mA*mU*mU*mU*mC*mU
749	Mod020L001*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC *mA*mU*mU*mU*mC*mU
750	Mod021*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA* mU*mU*mU*mC*mU
751	mU*mC*mA*mA*mG*mG*mAmAmGmAmUmGmGmC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
752	mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mAmGmAmUmGmG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*m U
753	mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mGmAmUmG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC* mU
754	mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mAmUmG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*m C*mU

10

20

30

40

50

755	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmAmAmGmAmUmGmGmC*SmA*SmU*SmU*S mU*SmC*SmU
756	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmAmGmAmUmGmG*SmC*SmA*SmU*Sm U*SmU*SmC*SmU
757	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmGmAmUmG*SmG*SmC*SmA*SmU *SmU*SmU*SmC*SmU
758	mU*SmC*SmA*SmA*SmG*SmG*SmA*SmA*SmG*SmAmU*SmG*SmG*SmC*SmA* SmU*SmU*SmU*SmC*SmU
759	fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*mAmGmAmUmGmG*fC*fA*fU*fU*fU*fU*fU
760	fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*mGmAmUmG*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
761	fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*fG*mAmU*fG*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
762	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAmAmGmA*RmUmGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC *SfU
763	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAmAmG*RmA*RmU*RmGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU *SfC*SfU
764	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmGmC*SfA*SfU*Sf U*SfU*SfC*SfU
765	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAmAmGmAfU*SmGmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC *SfU
766	fU*SfC*SfA*SfA*SmG*SmG*SfAfAmGmAfU*SmGmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC *SfU
767	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmA*RmA*RmGmAmUmG*RmG*RmC*SfA*SfU*SfU*S fU*SfC*SfU
768	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmA*RmAmGmAmUmGmG*RmC*SfA*SfU*SfU*SfU*S fC*SfU
769	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmA*SmA*SmGmAmUmG*SmG*SmC*SfA*SfU*SfU*Sf U*SfC*SfU
770	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmA*SmAmGmAmUmGmG*SmC*SfA*SfU*SfU*SfU*Sf C*SfU
771	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmA*SmA*SmG*SmA*SmU*SmG*SmG*SmC*SfA*SfU *SfU*SfU*SfC*SfU
772	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmA*RmA*RmG*RmA*RfU*SmG*RmG*SfC*SfA*SfU* SfU*SfU*SfC*SfU
773	fU*SfC*SfA*SfA*SmG*SmG*SfA*RfA*RmG*RmA*RfU*SmG*RmG*SfC*SfA*SfU* SfU*SfU*SfC*SfU
774	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SmAmGmAmUmGmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC *SfU
775	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*SfC*SfA*SfU* SfU*SfU*SfC*SfU
776	mU*SmC*SmA*SfA*SfG*SfG*SmA*RmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*RmC*SfA *SfU*SfU*SmU*SmC*SmU
777	mU*SmC*SmA*SfA*SfG*SfG*SfA*SmA*RmG*RmA*RmU*RmG*RmG*SfC*SfA*Sf U*SfU*SmU*SmC*SmU

10

20

30

40

50

778	mU*SmC*SmA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmG*RmA*RmU*RmG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SmU*SmC*SmU
779	mU*SmC*SmA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmA*RmU*StG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SmU*SmC*SmU
780	mU*SmC*SmA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmGmAmUmG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SmU*SmC*SmU
781	mU*SmC*SmA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAmU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SmU*SmC*SmU
782	fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*mG*mA*mU*mG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
783	fU*fC*fA*fA*fG*fC*fA*fA*mG*mA*mU*mG*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
784	fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*fG*mA*mU*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
785	fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
786	mU*mC*mA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*mU*mC*mU
787	mU*mC*mA*fA*fG*fG*fA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*fC*fA*fU*fU*mU*mC*mU
788	mU*mC*mA*fA*fG*fG*fA*fA*mG*mA*mU*mG*fG*fC*fA*fU*fU*mU*mC*mU
789	mU*mC*mA*fA*fG*fG*fA*fA*fC*mA*mU*fG*fG*fC*fA*fU*fU*mU*mC*mU
790	mU*mC*mA*fA*fG*fG*fA*fA*mGmAmUmG*fG*fC*fA*fU*fU*mU*mC*mU
791	mU*mC*mA*fA*fG*fG*fA*fA*fG*mAmU*fG*fG*fC*fA*fU*fU*mU*mC*mU
792	Mod024L001*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
793	Mod026L001*mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
794	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*BrdU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
795	fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*fG*mA*BrdU*fG*fC*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
796	mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*BrdU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
797	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmGmABrdUmG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
798	fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*mGmABrdUmG*fG*fC*fA*fC*fU*fU*fC*fU
799	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAmAmGmABrdUmGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
800	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAmAmGmABrdUmGmGmC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
801	LOOI*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAmAmGmAmUmGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
802	Mod015L001*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAmAmGmAmUmGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
803	Mod006L001*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAmAmGmAmUmGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
804	LOOI*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmGmAmUmG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
805	Mod015L001*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmGmAmUmG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU

10

20

30

40

50

806	Mod006L001*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmGmAmUmG*SfG*SfC*SfA *SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
807	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmGmAmUmGmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU *SfC*SfU
808	LOO1*fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC *fU
809	Mod015L001*fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU *fU*fC*fU
810	Mod006L001*fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*f U*fC*fU
811	Mod020L001*fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*f U*fC*fU
812	Mod019L001*fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*fA*fU*fU*f U*fC*fU
813	LOO1*fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*mGmAmUmG*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
814	Mod015L001*fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*mGmAmUmG*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*f U
815	Mod006L001*fU*fC*fA*fA*fG*fG*fA*fA*mGmAmUmG*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*f U
816	Mod020L001*fU*fU*fA*fA*fG*fG*fA*fA*mGmAmUmG*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
817	Mod019L001*fU*fU*fA*fA*fG*fG*fA*fA*mGmAmUmG*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
818	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAmAmGmA*mUmGmGmC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
819	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAmAmGmA*mU*mGmGmC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
820	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAmA*mG*mA*mU*mG*mGmC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
821	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mGmAmUmG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
822	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mAmGmAmUmGmG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
823	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mGmAmUmG*mG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
824	fU*fC*fA*fA*fG*PG*mA*mAmGmAmUmGmG*mC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
825	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAmAmGmAfU*mGmG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
826	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*fU*mG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
827	fU*fC*fA*fA*mG*mG*fA*fAmGmAfU*mGmG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
828	fU*fC*fA*fA*mG*mG*fA*fA*mG*mA*fU*mG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
829	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA*mA*mG*mA*fU*mG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
830	fU*fC*fA*fA*mG*mG*fA*fA*mG*mA*fU*mG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
831	fU*fC*fA*fA*mG*mG*fA*fA*mGmAmUmG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
832	fU*fC*fA*fA*mG*mG*mA*mA*mGmAfUmG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
833	fU*fC*fA*fA*mG*mG*fA*fA*mG*mA*mU*mG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
834	fU*fC*fA*fA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*fU*mG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
835	fU*fC*fA*fA*mG*mG*fA*fAmGmAfU*mGmG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
836	fU*fC*fA*fA*mG*mG*fA*fA*mG*mA*fU*mG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
837	fU*fC*fA*fA*mG*mG*fA*fA*mG*fA*fU*mG*mG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
838	fU*fC*fA*fA*mG*mG*fA*fA*mGmAmUmGmG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
839	fU*fC*fA*fA*mG*mG*fA*fA*mGmAfU*mGmG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU

10

20

30

40

50

840	fU*fC*fA*fA*mG*mG*mA*mA*mGmAfU*mGmG*fC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
841	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAmAmGmAmU:mGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
842	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAmA:mGmAmUmG:mGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
843	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmA:mAmG:mAmUmGmG:mC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
844	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmA:mAmGmAmU:mGmG:mC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
845	fU*SfC*SfA*SfA*fG:fG:mAmAmGmAmU:mGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
846	fU*SfC*SfA*SfA*mG:mG:mAmAmGmAmU:mGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
847	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SmAmGmAmU:mGmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
848	fU*SfC*SfA*SfA*fG:fG:fA*SmAmGmAmU:mGmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
849	fU*SfC*SfA*SfA*mG:mG:fA*SmAmGmAmU:mGmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
850	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmGmAmU:mG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
851	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmG:mA:mU:mG*SfG*SPC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
852	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmG:mAmU:mG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
853	fU*SfC*SfA*SfA*fG:fG:fA*SfA*SmGmAmU:mG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
854	fU*SfC*SfA*SfA*mG:mG:fA*SfA*SmGmAmU:mG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
855	Mod015L001mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
856	Mod019L001mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
857	Mod020L001mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
858	Mod015L001:mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
859	Mod019L001:mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
860	Mod020L001:mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
861	fU*SfC*SfA*SfA*SfG:fG:mAmAmGmAmU:mGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
862	fU*SfC*SfA*SfA*SmG:mG:mAmAmGmAmU:mGmGmC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
863	fU*SfC*SfA*SfA*SfG:fG:fA*SmAmGmAmU:mGmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU

10

20

30

40

50

864	fU*SfC*SfA*SfA*SmG:mG:fA*SmAmGmAmU:mGmG*StC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
865	fU*SfC*SfA*SfA*SfG:fG:fA*SfA*SmGmAmU:mG*SPG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
866	fU*SPC*SfA*SfA*SmG:mG:fA*SfA*SmGmAmU:mG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
867	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAmUmG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SPC*SfU
868	fU*fc*fA*fA*fG*fG*fA*fA*fG*mAmUmG*fG*fc*fA*fU*fU*fU*fc*fU
869	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGfA*SmUfG*SmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
870	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmGfA*SmUPG*SmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
871	LOO1mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
872	LOO1fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAmU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
873	Mod013L001mU*mC*mA*mA*mG*mG*mA*mA*mG*mA*mU*mG*mG*mC*mA*mU*mU*mU*mC*mU
874	Mod013L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAmU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
875	Mod014L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAmU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
876	Mod005L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAmU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
877	Mod015L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAmU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
878	Mod020L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAmU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
879	Mod027L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAmU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
880	Mod029L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAmU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
881	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfGfA*SmAfG*SmAfU*SmGfGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
882	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfAfG*SmAfU*SmG*SmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
883	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAfU*SmG*SfG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
884	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SmGmAfU*SmGmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
885	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfG*SmAfU*SmGfG*SfC*SU*SfC*SfU
886	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*mAmAmGm AfU*SmGmG*SfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU

10

20

30

40

50

887	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmA*SmA*SmG*SmA*SfU*SmG*SmG*SfC*SfA*SfU*S fU*SfU*SfC*SfU
888	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGfA*SfUfG*SmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC* SfU
889	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGfA*SfUmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*S fU
890	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGfA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC *SfU
891	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*Sf C*SfU
892	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGfAfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*S fU
893	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmAfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC* SfU
894	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGfA*SfU*SmGmGfC*SfAfU*SfU*SfU*SfC*S fU
895	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfAfU*SfU*SfU*SfC* SfU
896	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGfAfU*SmGmGfC*SmA*SfU*SfU*SfU*SfC* SfU
897	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmAfU*SmGmGfC*SmA*SfU*SfU*SfU*SfC *SfU
898	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGfAfU*SmGmGfC*SmAfU*SfU*SfU*SfC*Sf U
899	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmAfU*SmGmGfC*SmAfU*SfU*SfU*SfC*Sf U
900	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGfAfU*SmGmGfC*SfAfU*SfU*SfU*SfC*SfU
901	fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmAfU*SmGmGfC*SfAfU*SfU*SfU*SfC*Sf U
902	fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAfA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
903	Mod030fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA fA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
904	Mod031fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA fA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
905	Mod032fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA fA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
906	Mod033fU*fC*fA*fA*fG*fG*mA fA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
907	Mod013L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU* SfU*SfU*SfC*S fU
908	Mod005L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU* SfU*SfU*SfC*S fU
909	Mod015L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU* SfU*SfU*SfC*S fU
910	Mod020L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU* SfU*SfU*SfC*S fU
911	Mod027L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU* SfU*SfU*SfC*S fU

10

20

30

40

50

912	Mod029L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
913	Mod030fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
914	Mod032fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
915	Mod033fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
916	Mod020L001*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*
917	Mod005L001*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
918	Mod014L001fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
919	Mod030*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
920	Mod032*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
921	Mod033*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
922	Mod033*fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAfA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
923	Mod020L001fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAfA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
924	Mod020L001*fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAfA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
925	LOO1*fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
926	LOO1fU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
927	rGrCrCrArArCrUrGrGrGrArGrCrUrGrGrArGrCrGrCrArCrCrArArCrArG
928	LOO1*fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAfA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
929	LOO1fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAfA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
930	Mod015L001*fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAfA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
931	Mod015L001fU*fC*fA*fA*fG*fG*mAfA*mGfA*mUfG*mGfC*fA*fU*fU*fU*fC*fU
932	fC*fC*fU*fU*fC*fC*mCfU*GmAfA*mGmGfU*fU*fC*fC*fU*fC*fC
933	LOO1fC*fC*fU*fU*fC*fC*mCfU*GmAfA*mGmGfU*fU*fC*fC*fU*fC*fC
934	Mod020L001fC*fC*fU*fU*fC*fC*mCfU*GmAfA*mGmGfU*fU*fC*fC*fU*fC*fC
935	fC*fC*fU*fU*fC*fC*mCfU*mGmAfA*mGmGfU*fU*fC*fC*fU*fC*fC
936	LOO1fC*fC*fU*fU*fC*fC*mCfU*mGmAfA*mGmGfU*fU*fC*fC*fU*fC*fC
937	Mod020L001fC*fC*fU*fU*fC*fC*mCfU*mGmAfA*mGmGfU*fU*fC*fC*fU*fC*fC
938	Mod015L001*fU*SPC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
939	Mod015L001*SfU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU
940	L001*SfU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfG*SmAfA*SmGmA*SfU*SmGmGfC*SfA*SfU*SfU*SfU*SfC*

10

20

30

40

50

40

979	fC*fA*fG*fG*fA*fU*mU*mU*mC*mA*mG*mC*mA*mU*fC*fC*fC*fC*fA
980	fU*fC*fA*fG*fG*fA*fU*mU*mU*mU*mC*mA*mG*mC*mA*fU*fC*fC*fC*fC*fC
981	fU*fU*fC*fA*fG*fG*fA*fU*mU*mU*mU*mC*mA*mG*mC*fA*fU*fC*fC*fC*fC
982	fU*fU*fU*fC*fA*fG*fG*fA*fU*mU*mU*mU*mC*mA*mG*fC*fA*fU*fC*fC*fC
983	fU*fU*fU*fU*fC*fA*fG*fG*fA*fU*mU*mU*mU*mC*mA*fG*fC*fA*fU*fC*fC
984	fU*fU*fU*fU*fU*fC*fA*fG*fG*fA*fU*mU*mU*mU*mC*fA*fG*fC*fA*fU*fC
985	fU*fU*fU*fU*fU*fU*fC*fA*fG*fG*fA*fU*mU*mU*mU*fC*fA*fG*fC*fA*fU
986	fG*fU*fU*fU*fU*fU*fU*mU*mC*mA*mG*mG*fA*fU*fC*fA*fG*fC*fA
987	fU*fG*fU*fU*fU*fU*fU*mU*mU*mC*mA*mG*mG*fA*fU*fU*fC*fA*fG*fC
988	fC*fU*fG*fU*fU*fU*fU*mU*mU*mU*mC*mA*mG*mG*fA*fU*fU*fU*fC*fA*fG
989	fG*fC*fU*fG*fU*fU*fU*mU*mU*mU*mU*mC*mA*mG*mG*fA*fU*fU*fU*fC*fA
990	fA*fG*fC*fU*fG*fU*fU*fU*mU*mU*mU*mU*mC*mA*mG*fG*fA*fU*fU*fU*fC
991	fG*fA*fG*fC*fU*fG*fU*fU*fU*mU*mU*mU*mU*mC*mA*fG*fG*fA*fU*fU*fU
992	fU*fG*fA*fG*fC*fU*fU*fU*fU*mU*mU*mU*mU*mU*mC*fA*fG*fG*fA*fU*fU
993	fU*fU*fG*fA*fG*fC*fU*fU*fU*fU*mU*mU*mU*mU*mU*mU*fC*fA*fG*fG*fA*fU
994	fU*fU*fU*fG*fA*fG*fC*fU*fU*fU*fU*mU*mU*mU*mU*mU*fU*fC*fA*fG*fG*fA
995	fG*fU*fU*fU*fG*fA*fG*fC*fU*fU*fU*fU*mU*mU*mU*fU*fU*fC*fA*fG*fG
996	fU*fU*fG*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
997	fC*fA*fU*fU*fG*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
998	fG*fC*fA*fU*fU*fG*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
999	fU*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1000	fC*fU*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1001	fU*fC*fU*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1002	fC*fU*fC*fU*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1003	fA*fC*fU*fC*fU*fG*fC*fA*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1004	fU*fA*fC*fU*fC*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1005	fU*fU*fA*fC*fU*fC*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1006	fC*fU*fU*fA*fC*fU*fC*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1007	fU*fC*fU*fU*fA*fC*fU*fC*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1008	fA*fU*fC*fU*fU*fA*fC*fU*fC*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1009	fA*fA*fU*fC*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1010	fC*fA*fA*fA*fU*fC*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1011	fG*fA*fU*fA*fC*fA*fA*fA*fU*fC*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU*fU
1012	Geo*Geo*Geo*Teo*m5Ceo*A*G*C*T*G*C*C*A*A*T*Geo*m5Ceo*Teo*Aeo*Geo
1013	Mod030Geo*Geo*Geo*Teo*m5Ceo*A*G*C*T*G*C*C*A*A*T*Geo*m5Ceo*Teo*Aeo*Geo
1014	Mod031Geo*Geo*Geo*Teo*m5Ceo*A*G*C*T*G*C*C*A*A*T*Geo*m5Ceo*Teo*Aeo*Geo
1015	Mod032Geo*Geo*Geo*Teo*m5Ceo*A*G*C*T*G*C*C*A*A*T*Geo*m5Ceo*Teo*Aeo*Geo
1016	Mod033Geo*Geo*Geo*Teo*m5Ceo*A*G*C*T*G*C*C*A*A*T*Geo*m5Ceo*Teo*Aeo*Geo

10

20

30

40

【0119】

表2中、“*”は、ステレオランダムホスホロチオエート連結を表し；“*s”は、ホスホロチオエート連結を表し；“*R”は、Rpホスホロチオエート連結を表し；全ての標識されていない連結は、天然のリン酸塩連結であり；塩基前の“m”は、2'-OMeを表し；また、塩基に続く“eo”は、2'-MOEを表す。Fは、フッ素化ヌクレオシドを表す。LOO1は、C6PO(ホスホジエステル)またはPS(ホスホロチオエート)リンカーを表す。Modは、核酸：ラウリン酸 (Mod013中)、ミリスチン酸 (Mod014中)、パルミチン酸 (Mod005中)、ステアリン酸 (Mod015中)、オレイン酸 (Mod016中)、リノール酸 (Mod017中)、アルファリノレン酸 (Mod018中)、ガンマリノレン酸 (Mod019中)、DHA (

50

Mod006中)、Turbinaric (Mod020中)、Dilinoleic (Mod021中)、TriGlcNAc (Mod024中)、TrialphaMannose (Mod026中)、MonoSulfonamide (Mod027中)、TriSulfonamide (Mod029中)、Lauric (Mod030中)、ミリスチン酸 (Mod031中)、パルミチン酸 (Mod032中)、及びステアリン酸 (Mod033中) に付加された修飾; それぞれアミド基、C6アミノリンカー、ホスホジエステル連結 (PO)、及び/またはホスホロチオエート連結 (PS) を介してオリゴヌクレオチド鎖に抱合されたラウリン酸 (Mod013の場合)、ミリスチン酸 (Mod014の場合)、パルミチン酸 (Mod005の場合)、ステアリン酸 (Mod015の場合)、オレイン酸 (Mod016の場合)、リノール酸 (Mod017の場合)、 α -リノレン酸 (Mod018の場合)、ガンマ-リノレン酸 (Mod019の場合)、ドコサヘキサエン酸 (Mod006の場合)、トゥルビナリン酸 (Mod020の場合)、ジリノレイルのアルコール (Mod021の場合)、TriGlcNAcの場合の酸 (Mod024の場合)、TrialphaMannoseの場合の酸 (Mod026の場合)、モノスルホンアミド (Mod027の場合)、トリスルホンアミドの場合 (Mod029の場合)、ラウリルアルコール (Mod030の場合)、ミリスチルアルコール (Mod031の場合)、パルミチルアルコール (Mod032の場合)、及びステアリン酸アルコール (Mod033の場合) を表す。

10

【0120】

表3

SEQ ID NO.	Sequence 5' -> 3
1017	GUGGAAUAGUAUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUAGUAUCCACACUGAGCAAUGCcGUAGUCAG*C*A*A*U
1018	GUGGAAUAGUAUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUAGUAUCCACGUAACUGAGCAAUGCcGUAGUCAGCAA*U*C*U*U
1019	GGAAUAGUAUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUAGUAUCCACUGAGCAAUGCcGUAGUCAG*C*A*A*U
1020	GGAAUAGUAUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUAGUAUCCCGUACUGAGCAAUGCcGUAGUCAGCAA*U*C*U*U
1021	cgcgcgttttcgcgcgGCUGAACACUGCAC
1022	cgcgcgttttcgcgcgGAGAUACUCACAAUU
1023	cgcgcgttttcgcgcgCGUUGACCUCCACUC
1024	rGrGrArArUrArGrUrArUrArArCrArArUrArUrgrcrurarArU rGrUrUrGrUrUrArUrArGrUrArUrCrCrCmC*mA*mG*mU*mCmC mCmUmUmUmCrUrCrGmUmCmGmAmUmGmG*mU*mC*mA*mG
1025	mG*mG*mA*mA*mU*mA*mG*mU*mA*mU*mA*mA*mC*mA*mA*mU*mA*mU*mG*mC*mU*mA*mA*mA*mU*mG*mU*mU*mG*mU*mU*mA*mU*mA*mG*mU*mA*mU*mC*mC*mCmC*mA*mG*mU*mCmCmUmUmUmCrUrCrGmUmCmGmAmUmGmG*mU*mC*mA*mG
1026	unmodified GUGUUGGCCAUGGAACAAUAUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUA
1027	2'OMe- PS UAUUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUAGUGUUGGCCAUGGAACA
1028	2'Ome- PS GUGUUGGCCAUGGAACAAUAUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUA
1029	unmodified GUGUUGGCCAUGGAACAAUAGUAUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUAGUAU
1030	unmodified GGAAUAGUAUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUAGUAUCCCGUGUUGGCCAUGGAACA
1031	unmodified GUGUUGGCCAUGGAACAGGAAUAGUAUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUAGUAUCCCGUGUUGGCCAUGGAACA
1032	2'OMe-PSGGAAUAGUAUAACAAUAUgcuaaAUGUUGUUAUAGUAUCCCGUGUUGGCCAUGGAACA

20

30

40

【0121】

50

表3中、"R"は、無修飾を表し；"m"は、2'-Meを表し；"PS"は、ホスホロチオエート連結を表し；また、"*"は、ホスホロチオエート連結を表す。

【0122】

表4

配列番号	配列 5' -> 3'	塩基修飾
1033	u*c*a*g*u*ccccuucUCGucgauggucagc*a*c*a*g	
1034	u*c*a*g*u*ccccuucUCGucgauggucagc*a*c*a*g	
1035	u*c*a*g*u*ccccuucUCGucgauggucagc*a*c*a*g	
1036	u*c*a*g*u*ccccuucucgucgauggucagc*a*c*a*g	
1037	u*c*a*g*u*ccccuucU*CGucgauggucagc*a*c*a*g	
1038	u*c*a*g*u*ccccuuc[TCG]ucgauggucagc*a*c*a*g	
1039	u*c*a*g*u*ccccuuc(ucg)ucgauggucagc*a*c*a*g	
1040	u*c*a*g*u*ccccuuc{U}C{G}ucgauggucagc*a*c*a*g	
1041	u*c*a*g*u*ccccuuc{U}X{G}ucgauggucagc*a*c*a*g	X: 5-メチルシチジン
1042	u*c*a*g*u*ccccuucUCZucgauggucagc*a*c*a*g	Z: イノシン
1043	u*c*a*g*u*ccccuucUXZucgauggucagc*a*c*a*g	X: 5-メチルシチジン, Z: イノシン
1044	u*c*a*g*u*ccccuucYXZucgauggucagc*a*c*a*g	Y: プソイドウリジン, X: 5-メチルシチジン, Z: イノシン
1045	u*c*a*g*u*ccccuucYXZucgauggucagc*a*c*a*g	Y: プソイドウリジン, X: 5-メチルシチジン, Z: イノシン
1046	u*c*a*g*u*ccccuucYXZucgauggucagc*a*c*a*g	Y: 5-メチルウリジン, X: 5-メチルシチジン,

10

20

30

40

50

			Z: イノシン
1047	u*c*a*g*uc <u>ccccuuu</u> cYXXZucgaug <u>ggucagc</u> *a*c*a*g		Y: チェノウリジン, X: 5-メチルシチジン, Z: イノシン
1048	u*c*a*g*uc <u>ccccuuu</u> cYXXZucgaug <u>ggucagc</u> *a*c*a*g		Y: 2,6-ジアミノプリン, X: 5-メチルシチジン, Z: イノシン
1049	u*c*a*g*uc <u>ccccuuu</u> cUXZucgaug <u>ggucagc</u> *a*c*a*g		X: ヒロロシチジン, Z: イノシン
1050	u*c*a*g*uc <u>ccccuuu</u> cYXXZucgaug <u>ggucagc</u> *a*c*a*g		Y: プソイドウリジン, X: ヒロロシチジン, Z: イノシン
1051	u*c*a*g*uc <u>ccccuuu</u> cYXXZucgaug <u>ggucagc</u> *a*c*a*g		Y: チェノウリジン, X: ヒロロシチジン, Z: イノシン
1052	u*c*a*g*uc <u>ccccuuu</u> cYXXZucgaug <u>ggucagc</u> *a*c*a*g		Y: プソイドウリジン, X: 5-メチルシチジン, Z: チェノグアノシン
1053	u*c*a*g*uc <u>ccccuuu</u> cYXXZucgaug <u>ggucagc</u> *a*c*a*g		Y: プソイドウリジン, X: ヒロロシチジン, Z: チェノグアノシン
1054	u*c*a*g*uc <u>ccccuuu</u> cU'C'Gvucgaug <u>ggucagc</u> *a*c*a*g		
1055	u*c*a*g*uc <u>ccccuuu</u> cU'C'G"ucgaug <u>ggucagc</u> *a*c*a*g		

10

20

30

40

50

1056	u*c*a*g*uccuuuuUACAGAucgauggucagc*a*c*a*g	
1057	u*c*a*g*uccuuuuU#C#G#ucgauggucagc*a*c*a*g	
1058	u*c*a*g*uccuuuuYXZucgauggucagc*a*c*a*g	Y: 5-メトキシウリジン, X: 5-メチルシチジン, Z: イノシン
1059	u*c*a*g*uccuuuuYXZucgauggucagc*a*c*a*g	Y: ジヒドロウリジン, X: 5-メチルシチジン, Z: イノシン
1060	u*c*a*g*uccuuuuYXZucgauggucagc*a*c*a*g	Y: プソイドウリジン, X: 5-ヒドロキシメチルシチジン, Z: イノシン
1061	u*c*a*g*uccuuuuYXZucgauggucagc*a*c*a*g	Y: プソイドウリジン, X: 5-メチルシチジン, Z: 7-メチルグアノシン
1062	u*c*a*g*uccuuuuYXZucgauggucagc*a*c*a*g	Y: プソイドウリジン, X: 5-メチルシチジン, Z: 7-デアザグアノシン
1063	u*c*a*g*uccuuuuYXZucgauggucagc*a*c*a*g	Y: プソイドウリジン, X: 5-メチルシチジン, Z: 8-アザ-7-デアザグナオシン
1064	u*c*a*g*uccuuuuYXZucgauggucagc*a*c*a*g	Y: プソイドウリジン, X: 5-メチルシチジン,

10

20

30

40

50

			Z: 7-ア ミ ノ メ チ ル-7-デア ザ グ ア ノ シ ン
1065	c*c*u*g*cgacacuuaggcCCAgagcugcucc*u*c*a*u		
1066	c*c*u*g*cgacacuuaggcXXYgagcugcucc*u*c*a*u		X: 5-メ チ ル シ チ ジ ン, Y: 7-メ チ ル ア デ ノ シ ン
1067	c*c*u*g*cgacacuuaggcXXYgagcugcucc*u*c*a*u		X: 5-メ チ ル シ チ ジ ン, Y: 8-メ チ ル ア デ ノ シ ン
1068	c*c*u*g*cgacacuuaggcXXYgagcugcucc*u*c*a*u		X: 5-メ チ ル シ チ ジ ン, Y: 3-デア ザ ア デ ノ シ ン
1069	c*c*u*g*cgacacuuaggcXXYgagcugcucc*u*c*a*u		X: 5-メ チ ル シ チ ジ ン, Y: 7-デア ザ ア デ ノ シ ン
1070	c*c*u*g*cgacacuuaggcXXYgagcugcucc*u*c*a*u		X: 5-メ チ ル シ チ ジ ン, Y: 8-ア ジ ド ア デ ノ シ ン
1071	c*c*u*g*cgacacuuaggcXXYgagcugcucc*u*c*a*u		X: 5-メ チ ル シ チ ジ ン, Y: イ ノ シ ン
1072	c*a*u*u*gaaagaagauaagaagaaaguuacugagaaguuaggCCAuggaacag*c*u*a*g		
1073	c*a*u*u*gaaagaagauaagaagaaaguuacugagaaguuaggCCZuggaacag*g*u*a*g		Z: 2-ア ミ ノ プ リ ン
1074	c*a*u*u*gaagaagauaagaagaaaguuacugagaaguuagg[C][A]uggaacag*g*u*a*g		
1075	g*a*c*u*gagguacuccuuagagaaguuagg[CCA]cuucuuaggcaa*a*g*g*a		
1076	g*u*a*g*gaugggaggaaguuaggCCAcuucuuaggcaa*a*g*g*a		
1077	c*u*g*u*ccaacacagcccccagccuuuaggaccucugCCAgauguuu*c*u*c*c		
1078	c*u*g*u*ccaacacagcccccagccuuuaggaccucugCCA]gaguuguu*c*u*c*c idT		
1079	c*u*g*u*ccaacacagcccccagccuuuaggaccucugC[A]gaguuguu*c*u*c*c idT		

10

20

30

40

50

1080	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucuguXC[A]gaguuuu*c*u*c idT	X: 5-メチルシチジン
1081	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucugcC[X]gaguuuu*c*u*c idT	X: デオキシ 2-アミノプリン
1082	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucugcC[A]gaauuuu*c*u*c idT	
1083	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucugcC[AGA]gaguuu*c*u*c idT	
1084	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucugc*C[A]*G*A*guuuu*c*u*c idT	
1085	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucugc*C[A]*gaguuuu*c*u*c idT	
1086	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucug*u*C*C*A*g*aguuuu*c*u*c idT	
1087	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucugc(caga)guuuu*c*u*c	
1088	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucugu[CCA]gaguuuu*c*u*c	
1089	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucugu[CCA]gaguuuu*c*u*c	
1090	c*u*g*u*ccaacacagccc*c*a*g*c*c*u*u*u*g*a*gaccucugu[CCA]gaguuuu*c*u*c	
1091	c*u*g*u*ccaacacagccc*c*a*g*c*c*a*gccc*c*a*g*c*c*u*u*u*g*a*gaccucugu[CCA]gaguuuu*c*u*c	
1092	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucugc[CA]gaguuuu*c*u*c	
1093	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucuguC(c)[A]gaguuuu*c*u*c	
1094	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucugu[C*C*A*]gaguuuu*c*u*c	
1095	c*u*g*u*ccaacacagccccagccuungagaccucugu[CCA]gaguuuu*c*u*c idT	
1096	a*c*a*c*a*G*cuc*c*a*g*c*c*u*u*u*G*A*gaccu*c*u*g*CCAGaguu*g*u*c*u*c	
1097	c*a*c*a*gccccagccuungagaccucugu[CCA]gaguuuu*c*u*c	
1098	c*a*c*a*g*c*c*c*a*g*c*c*u*u*u*g*agaccucugu[CCA]gaguuuu*c*u*c	
1099	c*a*c*a*gccc*c*a*g*c*c*u*u*u*g*a*gaccucucc*[C*A]*gaauuu*c*u*c	
1100	g*a*c*u*gagguacuacauagggaagggcacC[A]cuuungggcaa*a*c*g*a	
1101	g*a*c*u*gagguacuacauagggaagggcacC[ACU]cuuungggcaa*a*g*g*a	

10

20

30

40

50

1102	g*a*c*u*ggguacuccauagggaaggcac[A]<cu>uuuggcaa*a*g*a
------	---

10

20

30

40

【 0 1 2 3 】

表4中、特定のYXZ塩基の修飾は、第3欄に記載されている。下部ケースのヌクレオチドは、RNA及び2'-O-メチルで修飾されている。上部ケースのヌクレオチドは、DNAである角括弧された[NNN]のヌクレオチドを除いて、RNAである。(nnn)と示される下部ケースのヌクレオチドは、2'-フルオロRNAで修飾されたヌクレオチドである。〈nnn〉と示される下部ケースのヌクレオチドは、2'-NH₂ RNAで修飾されたヌクレオチドである。{N}と示されるヌクレオチドは、ロック解除された核酸(UNA)である。"idT"は、分解に対する耐性を増強すると共に、PCR増幅中にAONの3'末端が伸長するのを遮断する3'逆T修飾を示す。"*"は、ホスホロチオエート連結を表し；"' ' "は、3'-メチレンホスホ

50

ネット連結を表し；" " "は、5'-メチレンホスホネート連結を表し；" ^ "は、3'-ホスホロアミデート連結を表し；また、" # "は、2'-5'ホスホジエステル連結を表す。

【 0 1 2 4 】

表 5

SEQ ID NO.	Sequence 5' -> 3
1103	g*a*c*u*gagguacuccuagagaaaggugCCAcuucuuggcaa*a*g*g*a-
1104	mC*mA*mU*mU*mGmAmAmGmAmAmGmAmUmAmAmGmAmGmAmAmAmGmUmAmCmUmGmAmGmAmAmGmUmGmUmUmGmGCCAmUmGmGmAmAmCmA mG*mG*mU*mA*mG
1105	cauugaagaa gauaagagaa aguacugaga aguguuggcc auggaacagg uag

10

【 0 1 2 5 】

表 5 中、RNAは、A、C、G、またはUで示され、DNAは、dA、dC、dG、またはdTで示され、2'-Omeは、mA、mC、mG、またはmUで示され、PMO(ホスホロジアミデートモルホリノオリゴマー)は、pA、pC、pG、またはpTで示され、また、ホスホロチオエートは、"*"で示されている。

【 0 1 2 6 】

表 6

SEQ ID NO.	Sequence 5' -> 3
1106	GUGGAUAGUAUAACAAUAUGCUMAAUGUUGUUAUAGUAUCCAC
1107	GUGGASSSGSASASCAAAUAUGCUMAAUGUUGSUSUSGSSSSCCAC
1108	GUGGAASAGSASAACAAUAUGCUMAAUGUUGUUSUSGUSUCCAC
1109	GUGGASASUAUAACAAUAUGCUMAAUGUUGUUAUAGYAYCCAC
1110	GUGGASSSGSSSSSSSUAUGCUMAAUGSSSSSSSGSSSSCCAC
1111	GUGGAASSGSASASCAAAUAUGCUMAAUGUUGSUSUSGSSU CCCAC
1112	GUGGSAUAGUAUAACAAUAUGCUMAAUGUUGUUAUAGUAUCCAC
1113	ACGCAACCAAGUCAUA
1114	GCAAUGCCAUCACCUC
1115	AGGGGUCCACAUGGCA
1116	GGCUCCCCAGGCCCU
1117	UGCCGUCCACCAGGAU
1118	CAGAUUCCAGGUGGGA
1119	UCCUGCCAGAAUAGA
1120	CUCCGCCACCAAAUG
1121	CCCAAACCACAACAGA
1122	ACCCACCCACCCAGGU
1123	CUGCCGCCAGCUGGAU
1124	AGGGAACCAGACAGUU

20

30

40

【 0 1 2 7 】

表 6 では、" S "は、GまたはCであってもよく；" Y "は、CまたはTであってもよく；また、" M "は、AまたはCであってもよい。

【 0 1 2 8 】

表 7

50

SEQ ID NO.	Sequence 5' -> 3
1125	U*U*C*A*C*U*UcAG*U*G*U*As*Us*Gs*Cs*C*
1126	U*U*C*A*C*U*UcAG*U*G*U*As*Us*Gs*Cs*C*
1127	A*C*C*U*C*C*AcUC*A*G*U*Gs*Us*Gs*As*U*
1128	U*U*U*C*C*U*UcAC*U*G*U*Us*Gs*Cs*As*A*
1129	U*G*U*G*U*A*UcUU*G*C*U*Gs*Us*Gs*As*G*
1130	G*A*G*G*U*C*UcUG*G*G*G*Gs*Cs*Gs*Cs*U*
1131	G*A*U*C*U*U*UcUG*A*U*G*Gs*Cs*Cs*As*C*
1132	A*G*C*C*A*C*AcAC*U*C*C*Gs*Us*Cs*As*G*
1133	G*A*U*U*U*U*UcUG*A*U*A*Gs*Cs*Us*As*C*
1134	G*G*C*C*A*C*AcAU*U*C*U*Gs*Us*Cs*As*G*
1135	G*A*U*C*U*U*UcUG*A*U*G*Gs*Cs*Cs*As*C*
1136	G*G*C*C*A*C*AcAC*U*C*C*Gs*Us*Cs*As*G*
1137	G*A*U*U*U*U*UcUG*A*U*A*Gs*Cs*As*As*C*
1138	G*G*C*U*A*C*GcAC*U*C*U*Gs*Us*Cs*As*A*
1139	A*G*G*C*C*G*UcGU*C*G*U*Gs*Gs*Cs*Gs*G*
1140	C*C*G*C*U*C*UcUcU C*A*G*C*Cs*Cs*Gs*Us*C*
1141	A*C*G*C*C*A*UcAG*C*U*C*Cs*As*As*Cs*U*
1142	G*U*C*U*C*A*UcAA*U*U*G*Cs*Us*Cs*Us*C*
1143	G*A*A*A*U*A*UcAU*C*A*G*As*Us*Us*Us*G*
1144	A*A*U*U*A*G*UcUU*C*U*G*Gs*Cs*Cs*As*U*
1145	G*A*U*C*A*G*UcUC*C*U*G*Gs*Cs*Cs*As*U*
1146	G*A*U*C*A*G*UcUU*C*U*G*Gs*Cs*Cs*As*U*
1147	G*A*U*C*A*G*UcUU*C*U*G*Gs*Cs*Cs*As*U*
1148	*A*C*U*G*C*UcAG*G*C*A*Us*Cs*As*Gs*C*
1149	C*A*C*U*G*C*UcGG*G*C*A*Us*Cs*As*Gs*C*
1150	U*C*C*G*C*UcGA*U*C*C*As*Cs*Gs*As*U*
1151	C*C*U*U*U*C*UcGU*C*G*A*Us*Gs*Gs*Us*C*
1152	C*C*U*U*U*C*UcGU*C*G*A*Us*Gs*Gs*Us*C*
1153	C*U*U*G*A*U*AcAU*C*C*A*Gs*Us*Us*Cs*C*
1154	U*U*U*C*A*G*GcAU*U*U*C*Cs*Us*Cs*Cs*G*
1155	C*U*U*C*A*G*GcAU*G*G*G*Gs*Cs*As*Gs*C*
1156	A*G*G*A*A*C*AcAA*C*C*U*Us*Us*Gs*Us*C*
1157	U*U*U*C*A*C*AcAU*C*C*A*Us*Cs*As*As*C*
1158	C*U*U*C*A*C*GcAU*C*C*A*Us*Cs*As*As*C*
1159	U*G*G*G*A*C*AcAA*C*C*C*Cs*Us*Gs*Cs*C*
1160	C*G*A*C*U*C*UcUC*U*G*G*As*Us*Gs*Us*U*
1161	C*G*A*C*U*C*UcUC*U*G*G*As*Us*Gs*Us*U*

10

20

30

【0129】

表7中、 N_a 及び N_b は、 N_a がアデノシンであり、かつ、 N_b がシチジンであるいくつかの場合には、ミスマッチを形成することができる； N_c 及び N_d は、これらがグアノシンであるいくつかの場合には、ミスマッチを形成する。"Gs"は、ホスホロチオエート基を含むグアノシンである。"Gsl"は、ホスホロチオエート基を含むLNAグアノシンであり、ここで、アスタリスク(*)は、いくつかの場合では、2'-水素(2'-クレオキシ)、2'-0-メチル、2'-0-メトキシエチル、または2'-フルオロによる2炭素原子でのヌクレオチドの修飾を示す。"A"は、アデノシンヌクレオチドまたはその変異体であり、いくつかの場合では、アデノシン、リボヌクレオチド、アデノシンデオキシヌクレオチド、修飾アデノシンリボヌクレオチド、または改変アデノシンデオキシヌクレオチドである。"C"は、シチジンヌクレオチドまたはその変異体、例えば、シチジンリボヌクレオチド、シチジンデオキシヌクレオチド、修飾シチジンリボヌクレオチド、または修飾シチジンデオキシヌクレ

40

50

オチドである。"G"は、グアノシンヌクレオチドまたはその変異体、例えば、グアノシンリボヌクレオチド、グアノシンデオキシヌクレオチド、修飾グアノシンリボヌクレオチド、または修飾グアノシンデオキシヌクレオチドである。"U"は、ウリジンヌクレオチドまたはその変異体、例えば、ウリジンリボヌクレオチド、ウリジンデオキシヌクレオチド、修飾ウリジンリボヌクレオチド、または修飾ウリジンデオキシヌクレオチドである。"A"、"C"、"G"または"U"は、ヌクレオチドであり、いくつかの場合では、ホスホロチオエート基をさらに含む上記で定義されたリボヌクレオチドまたはデオキシヌクレオチドである。ここで、アスタリスク(*)は、例えば、2'-水素(2'-デオキシ)、2'-0-メチル、2'-0-メトキシエチル、または2'-フルオロによる2'炭素原子での先行ヌクレオチドの化学修飾を示し、下部ケースの文字cは、標的配列において編集されるヌクレオチド、例えば、アデノシンまたはシチジン、例えば、アデノシンに対応する位置を示し、cは、シチジンヌクレオチドまたはその変異体、デオキシシチジンヌクレオチドまたはその変異体、または脱塩基部位を表す。

10

【0130】

表8

20

30

40

50

SEQ ID NO.	Sequence 5' -> 3
1162	(GUGGAAUAGUAUAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUAUAGUAUCCACGUGCA GCCAGCCGUCCUCUAGAGGGGCCUGAAGAGGGGCC)
1163	(GUGGAAGAGGAGAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUCUCGUCUCCACGUGCA GCCAGCCGUCCUCUAGAGGGGCCUGAAGAGGGGCC)
1164	(GUGGUCGAGAAGAGGAGAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUCUCGUCUCCUCG ACCACGUGCAGCCAGCCGUCCUCUAGAGGGGCCUGAAGAGGGGCC)
1165	[GCAAUG](CCA)[UCAC][C*][U][C][C*][C]
1166	(GGUGAAUAGUAUAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUAUAGUAUCCACC)[GCAA UG](CCA)[UCAC][C][U*][C*][C*][C]
1167	(GGUGAAGAGGAGAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUCUCGUCUCCACC)[GCAA UG](CCA)[UCAC][C][U*][C*][C*][C]
1168	(GGUGUCGAGAAGAGGAGAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUCUCGUCUCCUCG ACACC)[GCAAUG](CCA)[UCAC][C*][U*][C][C][C]
1169	[AGGGGU](CCA)[CAUG][G][C*][A][A][C]
1170	(GGUGAAUAGUAUAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUAUAGUAUCCACC)[AGGG GU](CCA)[CAUG][G*][C*][A][A][C]
1171	(GGUGAAGAGGAGAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUCUCGUCUCCACC)[AGGG GU](CCA)[CAUG][G*][C*][A*][A*][C]
1172	(GGUGUCGAGAAGAGGAGAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUCUCGUCUCCUCG ACACC)[AGGGGU](CCA)[CAUG][G*][C*][A*][A*][C]
1173	[G*][G*][U](G)[U][C](GAGAAGAGGAGAA)[C](AA)[U]
1174	[GGGGUG](CCA)[AGCA][G*][U*][U*][G*][G]
1175	(GGUGUCGAGAAGAGGAGAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUCUCGUCUCCUCG ACACC)[GGGGUG](CCA)[AGCA][G*][U*][U*][G][G]
1176	[GGGGUG](CCA)[AGCA][G][U*][U*][G*][G]
1177	(GGUGUCGAGAAGAGGAGAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUCUCGUCUCCUCG ACACC)[GUUUUU](CCA)[GACG][G*][C*][A*][G*][G]
1178	[G*][G*][U](G)[U][C](GAGAAGAGGAGAA)[C](AA)[U]
1179	[G*][G*][U](GUCGAGAAGAGGAGAACAAUAUGC U)
1180	(GGUGUCGAGAAGAGGAGAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUCUCGUCUCCUCG ACACC)[CCUUUC](UCG)[UCGA][U*][G*][G*][U*][C]
1181	(CAUGGCCCCAGCAGCUUCAGUC)[C]{C}[UUUC](UCG)
1182	[G*][G*][U](G)[U][C](GAGAAGAGGAGAA)[C](AA)[U](A)[U](G)[C][U](AAA)[U](G)[U][U](G)[U][U][C][U][U][C][U][C][GACACCCAUGGCCCCAGCAGCUUCAG UC)[C]{C}[UUUC](UCG)[UCGA]{T*}[G*][G*]{T*}[C]
1183	[G*][G*][U](G)[U][C](GAGAAGAGGAGAA)[C](AA)[U](A)[U](G)[C][U](AAA)[U](G)[U][U](G)[U][U][C][U][C](G)[U][C][U][C][U][C](GACACCCAUGGCCCCAGC AGCUUCAGUC)[C]{C}[UUUCU](CG)[UCGA]{T*}[G*][G*]{T*}[C]
1184	[G*][G*][U](G)[U][C](GAGAAGAGGAGAA)[C](AA)[U]
1185	(GGUGAAUAGUAUAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUAUAGUAUCCACCAGGGG UCCACAUGGCAAC)

10

20

30

40

50

1186	(GGUGAAGAGGAGAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUCUCGUCUCCACCAGGGG UCCACAUGGCAAC)
1187	(GGUGUCGAGAAGAGGAGAACAAUAUGC UAAAUGUUGUUCUCGUCUCCUCG ACACCAGGGGUCCACAUGGCAAC)
1188	(GGACCAACUGCUUGGCACCCCUGGCCAAGGUCAUCCAUGACAACUUUGGU AUCGUGGAAGGACC)
1189	(GGGAACUGGAUCUAUCAAGACUGAGUUGAUUUCUGUGUCUGAAGUGUAAG UGAACACAGAA)
1190	(GGACCATCGACGAGAAAGGGACTGAAGCTGCTGGGGCCATGTTTTTAGAGG CCATACCCAT)

10

【 0 1 3 1 】

表 8 中、括弧内の塩基、例えば、" (N) " は、RNA 塩基を示し；角括弧で囲まれた文字、例えば、" [N] " は、2'-OMe RNA 塩基を示し；" * " は、ホスホロチオエート連結を示し；カール括弧内の塩基、例えば、" {N} " は、LNA 塩基を示し；" c " は、ヌクレオチドに対応する位置にあるシチジンヌクレオチドまたはその変異体、デオキシシチジンヌクレオチドまたはその変異体、または脱塩基部位であり、いくつかの場合では、例えば、前記標的配列における編集されるアデノシンまたはシチジンであり、いくつかの場合では、例えば、前記標的配列における編集されるアデノシンである。

20

【 0 1 3 2 】

表 9

30

40

50

SEQ ID NO.	Sequence 5' -> 3
1191	UsCsAUUAAACGCCAGAGUCsCsGsGsA
1192	UsCsUGAAUAAUCCAGGAAAsAsGsCsA
1193	UsAsUAGGGGUGCCAAGCAGsUsUsGsG
1194	UsAsUGGUUUUCCAGACGGsCsAsGsG
1195	GsGsUGCAGAUUCCAGGUGGsGsAsCsG
1196	AsCsAGACUUGGCCACUGAGsUsGsGsG
1197	UsAsUGUGUCGGCCACGGAAAsCsAsGsG
1198	AsAsUAAGGGGUCCACAUGGsCsAsAsC
1199	UsCsGAGCAAUGCCAUCACCsUsCsCsC
1200	UsAsUUUCCCUGCCAGAAUAsGsAsUsG
1201	GsAsUGCUCCAACCACCACAsAsGsUsU
1202	CsGsUCUCUUGCCCACGCCAsCsCsAsG
1203	GsUsCUCUUGAUACAUCCAGsUsUsCsC
1204	CsAsCAUGGGAUCCCAUUGsAsUsGsA
1205	UsAsUCGACCAAACCCGUUGsAsCsUsC
1206	CsAsCGUCAUGAGCCCUUCCsAsCsGsA
1207	AsAsCGAGGGAUCCCGCUCCsUsGsGsA
1208	GsAsAGAGGCUGUCGUCAUAsCsUsUsC
1209	CsAsAGAGGUCAACGAAGGGGsUsCsA
1210	AsAsCGCCAGGGGCGCUAAGsCsAsGsU
1211	UsAsCGCAUGGACCGUGGUCsAsUsGsA
1212	UsAsCAUGACCCUCUUGGCUUsCsCsCsC
1213	GsAsCUAGCCAAACUCGUUGsUsCsAsU
1214	AsGsUCGCCACAGCUUCCCGsGsAsGsG
1215	UsGsUAUAUCCACCUUACCAsGsAsGsU
1216	AsGsGAGGGGUCUACUCCUsUsGsGsA
1217	CsUsAGGCAACAACAUCCACsUsUsUsA
1218	CsCsGAGCGCCAGCAGAGGCsAsGsGsG
1219	UsAsUGGUUUUCCAGACGGsCsAsGsG
1220	GsAsAGAGGCUGUCGUCAUAsCsUsUsC
1221	GsAsAGAGGCUGUCGUCAUAsCsUsUsC
1222	UsAsCAUGACCCUCU UGGCUUsCsCsCsC
1223	UsAsCAUGACCCUCU UGGCUUsCsCsCsC
1224	AsGsUCGCCACAGCUUCCCGsGsAsGsG
1225	AsGsUCGCCACAGCUUCCCGsGsAsGsG
1226	AsGsGAGGGGUCUACUCCUsUsGsGsA
1227	AsGsGAGGGGUCUACUCCUsUsGsGsA

10

20

30

【0133】

表9中、太字で強調されたヌクレオチドは、未修飾であり、中間の標的アデノシンと共に三重項に対向して配置される。イタリックで強調されたヌクレオチドは、2'-O-メチル化で修飾され、2'-フッ素化ヌクレオチドは、グレイアウトされる。骨格は、"s"で示される末端ホスホロチオエート連結を含む。5'末端の最初の3個のヌクレオチドは、mRNA基質に相補的ではないが、gRNAとSNAP-タグとの間のリンカー配列として働く。

40

【0134】

表10

SEQ ID NO.	Sequence 5' -> 3
1228	TAATCTAGGAAAAGTGAAGAACAGAGGCCCTGAAAAAGGGCCAAA TTCTTCCACCC

50

【 0 1 3 5 】

表 11

SEQ ID NO.	Sequence 5' -> 3'
1229	AAACCGAGGGAUCAUAGGGGACUGAAUCCACCAUUCUUCUCCCAAUCCCUG CAACUCCUUCUUCUCCCGCUG
1230	UGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCAGCAUCGCGAGCA GGCGCUGCCUCCUCCGCC
1231	UCUCAGUCCAAUGUAUGGUCCGAGCACAAGCUCUAAUCAAGUCCGCGGGU GUAGACCGGUUGCCAUAGGA
1232	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCAGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1233	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCAAGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1234	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCUAGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1235	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCGAGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1236	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUGCAGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1237	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCAGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1238	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCAGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1239	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCUGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1240	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUGCUGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1241	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCUGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1242	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCUGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1243	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCGCGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1244	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUGCCGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1245	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCGCGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1246	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCACGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1247	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCGCGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1248	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUGCUGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1249	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCGGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG

10

20

30

40

50

1250	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUACGGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1251	ACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAGCAGG
1252	GCCCUUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAGCAGGCCGUGCCUCC
1253	ACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAGCAGGC GCUGCCUCCUCCGCCGCUG
1254	ACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUC GCGAGCAGGCCGUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGC
1255	GCUCGACCAGGAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCAC UGGCAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAGCAGGCCGUGCCUCCUCCGCCGCUGCCU CCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCCGUGCUCGCCGUCCAGCUCGACCAGGAUGG GCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCA GCAUCGCGAGCAGGCCGUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCU CCUCCGCCCGUGCAGCUUGUACA
1256	UCGCCGUCCAGCUCGACCAGGAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGC CCUUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAGCAGGCCGUGCCUCCUCC GCCGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCCGUGCAGCUUGUACA
1257	GCCGUUUACGUCGCCGUCCAGCUCGACCAGGAUGGGCACCACCCCGGUGAAC AGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAGCAGGCCG UGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCCGUGCAGCUU GUACAGCUCGUCCAU
1258	UGAACUUGUGGCCGUUUACGUCGCCGUCCAGCUCGACCAGGAUGGGCACCA CCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUCG CGAGCAGGCCGUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCCGUGCCUCCUCCG CCUUGCAGCUUGUACAGCUCGUCCAUGCCGCCGGUG
1259	CCGGACACGCUGAACUUGUGGCCGUUUACGUCGCCGUCCAGCUCGACCAGG AUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCCC UCCAGCAUCGCGAGCAGGCCGUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCGCU GCCUCCUCCGCCCGUGCAGCUUGUACAGCUCGUCCAUGCCGCCGGUGGAGUGG CGGC
1260	GCGACCGGGGAUCUCCACAGAUUCUUCGGC
1261	GCUCACGGUGGCGACCGGGGAUCUCCACAGAUUCUUCGGCGUGUAUACCU
1262	CCUCGCCCUUGCUCACGGUGGCGACCGGGGAUCUCCACAGAUUCUUCGGCG UGUAUACCUUCUGCUGCCU
1263	GUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACGGUGGCGACCGGGGAUCUCCACAGA UUCUUCGGCGUGUAUACCUUCUGCUGCCUCCUCCGCCGC
1264	CACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACGGUGGCGACCGGGGAU CUCCACAGAUUCUUCGGCGUGUAUACCUUCUGCUGCCUCCUCCGCCGCUGC CUCCUCC
1265	CCAGGAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACGGUGGC GACCGGGGAUCUCCACAGAUUCUUCGGCGUGUAUACCUUCUGCUGCCUCC UCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCU
1266	UCCAGCUCGACCAGGAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGC UCACGGUGGCGACCGGGGAUCUCCACAGAUUCUUCGGCGUGUAUACCUUC UGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCCU

10

20

30

40

50

1267	CGGCGACGUAUCCAGCUCGACCAGGAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCC UCGCCCUCUGCUCACGGUGGCGACCGGGGAUCUCCACAGAUUCUCCGGCGU GUAUACCUUCUGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUC CGCCCUGCAGCUUGUA
1268	UGUGGCCGUAUACGUCGCCGUCCAGCUCGACCAGGAUGGGCACCACCCCGGU GAACAGCUCCUCGCCCUCUGCUCACGGUGGCGACCGGGGAUCUCCACAGAUUC UCCCGGCGUGUAUACCUUCUGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCGC UGCCUCCUCCGCCCGCAGCUUGUACAGCUCGUCC
1269	ACGCUGAACUUGUGGGCCGUUACGUCGCCGUCCAGCUCGACCAGGAUGGGC ACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUCUGCUCACGGUGGCGACCGGGGAUC UCCACAGAUUCUCCGGCGUGUAUACCUUCUGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCC UCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCCGCAGCUUGUACAGCUCGUCCAUGCCG CCGG
1270	CAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCCGCUGC CUCCUCCGCCCGCAGCUU
1271	CCUCCAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCUCCGCC GCUGCCUCCUCCGCCCGC
1272	CAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUCCU CCGCCGCUGCCUCCUCCGC
1273	ACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCGCUG CCUCCUCCGCCGCUGCCUCC
1274	UGCUCACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCC GCUGCCUCCUCCGCCCGCUG
1275	GCCCUUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCU CCGCCGCUGCCUCCUCCGC
1276	UCCUCGCCCUCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGC CUCCUCCGCCGCUGCCUCC
1277	GGUGAACAGCUCCUCGCCCUCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUCGCGAG CAGGCGCUGCCUCCUCCGC
1278	ACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCAGCAUC GCGAGCAGGCGCUGCCUCC
1279	GCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUCUGCUCACUGGCAGAGCCCUCCA GCAUCGCGAGCAGGCGCUG
1280	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUCUGCUCACUGGCAGAGCC CUCCAGCAUCGCGAGCAGG
1281	ACCAGGAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUCUGCUCACUGGCA GAGCCCUCCAGCAUCGCGA
1282	GCUCGACCAGGAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUCUGCUCAC UGGCAGAGCCCUCCAGCAU
1283	GUCCAGCUCGACCAGGAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUCUG CUCACUGGCAGAGCCUCC
1284	CACAGAUUCUCCGGCGUGUAUACCUUCUGCUGCCUCCUCCGCCGCUGCCUC CUCCGCCGCUGCCUCCUCC
1285	AUCUCCACAGAUUCUCCGGCGUGUAUACCUUCUGCUGCCUCCUCCGCCGCUG GCCUCCUCCGCCGCUGCCU

10

20

30

40

50

1286	CGGGGAUCUCCACAGAUUCUUCGCGUGUAUACCUUCUGCUGCCUCCUCCG CCGUGCCUCCUCCGCCGC
1287	GCGACCGGGGAUCUCCACAGAUUCUUCGCGUGUAUACCUUCUGCUGCCU CCUCCGCCGUGCCUCCUCC
1288	CGGUGGCGACCGGGGAUCUCCACAGAUUCUUCGCGUGUAUACCUUCUGC UGCCUCCUCCGCCGUGCCU
1289	GCUCACGGUGGCGACCGGGGAUCUCCACAGAUUCUUCGCGUGUAUACCU UCUGCUGCCUCCUCCGCCGC
1290	CCCUUGCUCACGGUGGCGACCGGGGAUCUCCACAGAUUCUUCGCGUGUA UACCUUCUGCUGCCUCCUCC
1291	CAGCUCCUCGCCCUGCUCACGGUGGCGACCGGGGAUCUCCACAGAUUCUUC CGGCGUGUAUACCUUCUGC
1292	GUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACGGUGGCGACCGGGGAUCUCCACAGA UUCUUCGCGUGUAUACCU
1293	CCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACGGUGGCGACCGGGGAUCUCCA CAGAUUCUUCGCGUGUA
1294	CACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACGGUGGCGACCGGGGAU CUCCACAGAUUCUUCGCG
1295	AUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACGGUGGCGACCG GGGAUCUCCACAGAUUCU
1296	CCAGGAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACGGUGGC GACCGGGGAUCUCCACAGA
1297	CUCGACCAGGAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACG GUGGCGACCGGGGAUCUCC
1298	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUCCAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1299	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUGCAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1300	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUUCAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1301	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUACAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1302	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUCCGGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1303	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUGCGGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1304	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUUCGGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU

10

20

30

40

50

1305	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUACGGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1306	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUCCUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1307	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUGCUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1308	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUACUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1309	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUUCUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1310	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUCCCGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1311	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUGCCGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1312	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUUCCGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1313	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUACCGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1314	UACCGCUACAGCCACGCUGAUUUCAGCUAUACCUGCCCGGUAUAAAGGGAC GUUCACACCGCGAUGUUCUCUGCUGGGGAAUUGCGCGAUAUUCAGGAUUA AAGAAGUGC
1315	ACUACAGUUGCUCGGAUUAUUAGGCUACGUCAAUAGGCACUAACUUAUUGG CGCUGGUGAACGGACUCCUCUCGAGUACCAGAAGAUGACUACAAAACUCC UUUCCAUUGCGAGUAUCGGAGUCUGGCUCAGUUUGGCCAGGGAGGCACU
1316	CGGAAGAGGGUGGGGCCGCGGUGGCCAGGGAGCCGGCGCCGCCACGCGCGG
1317	CAGCUGAGGCCGGAAGAGGGUGGGGCCGCGGUGGCCAGGGAGCCGGCGCCG CCACGCGCGGGUGGGGGGGA
1318	GGAGGCGAAAGCAGCCCGGACAGCUGAGGCCGGAAGAGGGUGGGGCCGCGG UGGCCAGGGAGCCGGCGCCGCCACGCGCGGGUGGGGGGACUGGGGUUGCU CGCGGGCUC
1319	GAGGCGCAGCAUCCACAGGCGGAGGCGAAAGCAGCCCGGACAGCUGAGGCC GGAAGAGGGUGGGGCCGCGGUGGCCAGGGAGCCGGCGCCGCCACGCGCGGG UGGGGGGACUGGGGUUGCUCGCGGGCUCGCGGCGGGCGGGCGGGCGCCG
1320	UCUUGCCUACGCCACCAGCUCCAACCACCAAGUUUAUUCAGUCAUUU

10

20

30

40

50

1321	GAUUCUGAAUUAGCUGUAUCGUCAAGGCACUCUUGCCUACGCCACCAGCUC CAACCACCACAAGUUUAUUAUUCAGUCAUUUUCAGCAGGCCUCUCUCCCCGCAC CUGGGAGC
1322	AUCAUAUUCGUCCACAAAAUGAUUCUGAAUUAGCUGUAUCGUCAAGGCACU CUUGCCUACGCCACCAGCUCCAACCACCACAAGUUUAUUAUUCAGUCAUUUUC AGCAGGCCUCUCUCCCCGCACCUGGGAGCCGCUGAGCCUCUGGGCCCCGC
1323	UCGGCAUGGUAUGAAGUACUUCGUCCAGGAGCUGGAGGGCCCCGGUGUAAGU
1324	GGGUCUGCAAUCGGCAUGGUAUGAAGUACUUCGUCCAGGAGCUGGAGGGGCC CGUGUAAGUGAAUUUCAU
1325	GACCUCAGUCUAAAGGUUGUGGGUCUGCAAUCGGCAUGGUAUGAAGUACU CGUCCAGGAGCUGGAGGGCCCCGGUGUAAGUGAAUUUCAUCCAGCAAGGUG UUUCUUUGA
1326	UAAGGGCCCCAACGGUAAAAGACCUCAGUCUAAAGGUUGUGGGUCUGCAAU CGGCAUGGUAUGAAGUACUUCGUCCAGGAGCUGGAGGGCCCCGGUGUAAGUG AAUUUCAUCCAGCAAGGUGUUUCUUUGAUGCUCUGUCUUGGGUAAUCC
1327	UGGGGGGUUCGGCUGCCGACAUCAGCAAUUGCUCUGCCACCAUCUCAGCCC
1328	AGCAGGGCCGUGGGGGGUUCGGCUGCCGACAUCAGCAAUUGCUCUGCCACC AUCUCAGCCCAUCCUCCGAA
1329	AGUAGAAGGCCAAGAGCCACAGCAGGGCCGUGGGGGGUUCGGCUGCCGACA UCAGCAAUUGCUCUGCCACCAUCUCAGCCCAUCCUCCGAAGUGAAUGAACA GGAACCAGC
1330	CCUCCCAUCACGGGGGCCGUAGUAGAAGGCCAAGAGCCACAGCAGGGCCGU GGGGGGUUCGGCUGCCGACAUCAGCAAUUGCUCUGCCACCAUCUCAGCCCA UCCUCCGAAGUGAAUGAACAGGAACCAGCUCUCAAGGGACCUCGCGAG
1331	GCCAAACACCACATGCTTGCCATCTAGCCAGGCTGTCTTGACTGTCGTGATGA AGAACTGGGAGCCGTTGGTGTCCTTGCCCTGCGTTGGCCATGCTCACCCAGCCA GGCCCGTAGTGCTTCAGTTTGAAGTTCTCATCGGGGAAGCGCTCA
1332	GGGAGTGGGTCCGCTCCACCAGATGCCAGCACCGGGGCCAGTGCAGCTCAGA GCCCTGTGGCGGACTACAGGGCCCGCACAGACGGTCACTCAAAGAAAGATGT CCCTGTGCCCTACTCCTTGCGGATGGCAAAGGGCTTCTCCACCTCGA
1333	TGCATTTTGTAAAAATAGATACTAGCAGATTGTCCCAAGATGTGTACAGCTCATT CTCACAGCCCAGCGAGGGCACCTACTCCACAAATGCGTGGCCACAGGTCATCA CCTGTCTGTGGCCCTGGCGAGCCTGATCCCTCACGCCGGGCAC
1334	GCTCATTCTCACAGCCCAGCGAGGGCACTTACTCCACAAATGCGTGGCCACAG GTCATCACCTGTCTGTGGCCCCGGCGAGCCTGATCCCTCACGCCGGGCACCC ACACGGCCTGCGTGCCTTCTAGACTTGAGTTCGCAGCTCTTTAAG
1335	TCGGCCGGGCCCTGGGGGCGGTGGGCGCTGGCCAGGACGCCACCGTGTGGTT GCTGTCCAGGACGGTCCCGGCCCGCGACACTTCGGCCCAGAGCTGCTCCTCAT CCAGCAGCGCCAGCAGCCCCATGGCCGTGAGCACCGGCTTGCGCA
1336	UGACCAGUCUUAAGAUCUUUCUUGACCUGCACCAUAAGAACUUCUCCAAAG GUACCAAAAUACUCUUUCAGGUCCUGUUCGGUUGUUUCCAUGGGAGACCC AACACUAUU
1337	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU

10

20

30

40

50

1338	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUGGAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1339	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUUGAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1340	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUAGAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1341	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGGGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1342	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUGGGGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1343	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUUGGGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1344	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUAGGGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1345	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1346	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUGGUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1347	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUAGUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1348	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUUGUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1349	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGCGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1350	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUGGCGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1351	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUUGCGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1352	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCUGCUCACUGGCAGAGCC CUAGCGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU

10

20

30

40

50

1353	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1354	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUGGAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1355	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUUGAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1356	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUAGAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1357	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1358	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGGGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1359	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGCGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1360	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1361	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUGGUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1362	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUUGUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1363	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUAGUGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1364	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGAGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1365	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGCGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1366	GAUGGGCACCACCCCGGUGAACAGCUCCUCGCCCCUUGCUCACUGGCAGAGCC CUCGGGCAUCGCGAGCAGGCGCUGCCUCCUCCGCCCUGCAGCUUGUACAGCU CGUCCAU
1367	GAUUCUGAAUUAGCUGUAUCGUCAAGGCACUCGUGCCGACGCCACCAGCUC CAACCACCACAAGUGGAGAGUCAGUCAUUUUCAGCAGGCCUCUCUCCCCGCAC CUGGGAGC

10

20

30

40

50

1368	GAUUCUGAAUUAGCUGGAUCGUCAAGGCACUCGGGGCCGACGCCACCAGCUC CAACCACCACAAGUGGAGAGUCAGUCAUUUUCAGCAGGCCUCUCUCCCGCAC CGGGGAGC
1369	GGGAGCAGCCUCUGGCAUUCUGGGAGCUUCAUCUGGACCUGGGUCUUCAGU GAACCAUUGUUCAAUAUCGUCCGGGGACAGCAUCAAUCAUCCAUUGCUUG GGACGGCAA
1370	GGGAGCAGCCUCUGGCAUUCUGGGAGCUUCAUCUGGACCUGGGUCUUCAGU GAACCAUUGUUCAAUAUCGUCCGGGGACAGCAUCAAUCAUCCAUUGCUUG GGACGGCAA
1371	GGGAGCAGCCUCUGGCAUUCUGGGAGCUUCAUCUGGACCUGGGUCUUCAGU GAACCAUUGUUCAAUAUCGUCCGGGGACAGCAUCAAUCAUCCAUGUCUUG GGACGGCAA
1372	CAUAUUACAGAAUACCUUGAUAGCAUCCAAUUUGCAUCCUUGGUUAGGGUC AACCAGUAUUCUCCACUCUUGAGUUCAGGAUGGCAGAAUUUCAGGUCUCU GCAGUUUCU
1373	GUGAAGAUAAAGCCAGUCCUCUAGUAACAGAAUGAGCAAGACGGCAAGAGCU UACCAGUCACUUGUGUGGAGACUUAUUACUUGCAUAAAGAUAUCCAUGGG AUAGUACUC
1374	GUGAACGUCAAACUGUCGGACCAAUAUGGCAGAAUCUUCUCUCAUCUCAAAC UUUCCAUAUCCGUUAUCAUGGAAUCAUAGCAUCCUGUAACUACUAGCUCUCU UACAGCUGG
1375	GCCAAUGAUCUCGUGAGUUAUCUCAGCAGUGUGAGCCAUCAGGGUGAUGAC AUCCCAGGCGAUCGUGUGGCCUCCAGGAGCCCAGAGCAGGAAGUUGAGGAG AAGGUGCCU
1376	CAAGACGGUGAACCACUCCAUGGUCUUCUUGUCGGCUUUCUGCACUGUGUA CCCCAGAGCUCGUGUUGCCGACAUCUCCUGGGGUGGCUUCCACUCCAGAGCC ACAUUAAG
1377	AGGAUUCUCUUUUGAAGUAUUGCUCCCCCAGUGGAUUGGGUGGCUCCAUUC ACUCCAAUGCUGAGCACUCCACAGAGUGGGUUAAGCGGCUCCGAACACG AAACGUGUA
1378	GACGCCCACCGUGUGGUUGCUGUCCAGGACGGUCCCGGCCUGCGACACUUCG GCCAGAGCUGCUCCUCAUCCAGCAGCGCCAGCAGCCCAUGGCCGUGAGCA CCGGCUU
1379	GACGCCCACCGUGUGGUUGCUGUCCAGGACGGUCCCGGCCUGCGACACUUCG GCCAGAGCUGCUCCUCAUCUGCGGGGGCGGGGGGGGGCCGUCGCCGCGUGG GGUCGUUG
1380	GGGTGATGGGTGCTGGCCAGGACACCCACTGTATGATTGCTGTCCAACACAGC CCCAGCCTTTGAGACCTCTGCCAGAGTTGTTCTCCATCCAACAGGGCCATGA GCCCCATGACTGTGAGTACTGGCTTTCGCAGCAACTGCACATGGG
1381	ACTACAGTTGCTCCGATATTTAGGCTACGTCAATAGGCACTAACTTATTGGCGC TGGTGAACGGAATTCCTCTCGAGTACCAGAAGATGACTACAAAACCTCTTTCC ATTGCGAGTATCGGAGTCTGGCTCAGTTTGGCCAGGGAGGCACT
1382	CTGCAGGGCGGAGGAGGCAGCGGCGGAGGAGGCAGCGGCGGAGGAGGCAGC AGAAGGTATACACGCCGGAAGAATCTGTAGAGATCCCCGGTCGCCACC

10

20

30

40

50

1383	CTGCAGGGCGGAGGAGGCAGCGGCGGAGGAGGCAGCGGCGGAGGAGGCAGC GCCTGCTCGCGATGCTAGAGGGCTCTGCCA
1384	CTGCAGGGCGGAGGAGGCAGCGCCTGCTCGCGATGCTAGAGGGCTCTGCCA
1385	AAACCGAGGGAUCAUAGGGGACUGAAUCCACCAUUCUUCUCCCAAUCCUG CAACUCCUUCUCCCCUGC
1386	ATGGACGAGCTGTACAAGCTGCAGGGCGGAGGAGGCAGCGCCTGCTCGCGAT GCTATAGGGCTCTGCCAGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCCGGGGTGGT GCCCATC
1387	UAGCUGUAUCGUCAAGGCACUCUUGCCUACGCCACCAGCUCCAACCACCACA AGUUUAUAUUCAGUCAUUUUCAGCAGGCCUCUCUCCCCG
1388	GAUUCUGAAUUAGCUGUAUCGUCAAGGCACUCUUGCCUACGCCACCAGCUC CAACUACCACAAGUUUAUAUUCAGUCAUUUUCAGCAGGCCUCUCUCCCCGCA CCUGGGAGC
1389	UCCACAAAAUGAUUCUGAAUUAGCUGUAUCGUCAAGGCACUCUUGCCUACG CCACCAGCUCCAACUACCACAAGUUUAUAUUCAGUCAUUUUCAGCAGGCCU CUCUCCCCGACCUGGGAGCCGCUGAGCCU
1390	AUCAUAUUCGUCCACAAAAUGAUUCUGAAUUAGCUGUAUCGUCAAGGCACU CUUGCCUACGCCACCAGCUCCAACCACCACAAGUUUAUAUUCAGUCAUUUUC AGCAGGCCUCUCUCCCCGACCUGGGAGCCGCUGAGCCUCUGGCCCCGC
1391	CUAUUGUUGGAUCAUAUUCGUCCACAAAAUGAUUCUGAAUUAGCUGUAUCG UCAAGGCACUCUUGCCUACGCCACCAGCUCCAACCACCACAAGUUUAUAUUC AGUCAUUUUCAGCAGGCCUCUCUCCCCGACCUGGGAGCCGCUGAGCCUCUGG CCCCGCCGCCGCCUUC
1392	UAGGAUCCUCUAUUGUUGGAUCAUAUUCGUCCACAAAAUGAUUCUGAAUU AGCUGUAUCGUCAAGGCACUCUUGCCUACGCCACCAGCUCCAACCACCACAA GUUUUAUAUUCAGUCAUUUUCAGCAGGCCUCUCUCCCCGACCUGGGAGCCGC UGAGCCUCUGGCCCCGCCGCCGCCUUCAGUGCCUGCG
1393	GAGGCGCAGCAUCCACAGGCGGAGGCGAAAGCAGCCCGGACAGCUGAGGCC GGAAGAGGGUGGGGCCGCGGUGGCCAGGGAGCCGGCGCCGCCACGCGCGGG UGGGGGGGACUGGGGUUGCUCGCGGGCUCGCGGGCGGGCGGGCGGGCGCG
1394	UCCUGUAGCUAAGGCCACAAAAUUAUCCACUGUUUUUGGAACAGUCUUUCC GAAGAGACCAAAGAUCACCCGGCCCAUCUUCUCCA AUUCGUAGGUC AAAAUACACCUUGACGGUGACUUUGGGCCCCUUCUUCUUCUACUGGCC
1395	GCCCUGGAUCAUGAAGUCCUUGAUUACACGAUGGAUUUUGCUGUUUUUGUA GCCAAAUCCUUCUCUCCUGUAGCCAAGGCCACAAAAUUAUCCACUGUUUU UGGAACAGUCUUUCCGAAGAGACCAAAGAUCACCCGGCCUACAUCUUA
1396	GCGCAAGUUAGGUUUUGUCAAGAAAGGGUGUAACGCAACCAAGUCAUAGUC CGCCUAGAAGCAUUUGCGGUG
1397	GCCAUGCCAAUCUCAUCUUGUUUUCUGCGCAAGUUAGGUUUUGUCAAGAAA GGGUGUAACGCAACCAAGUCAUAGUCCGCCUAGAAGCAUUUGCGGUGGACG AUGGAGGGGCCGGACUCGUCAUACUCCUG
1398	GGACUCCUGUAACAACGCAUCUCAUAUUUGGAAUGACCAUUA AAAAAACA ACAAUGUGCAAUCAAGUC
1399	CAAGGUGCGGCUCGCGCCCCUCCCCUCUUAAGGGGUCCACAUGGCAACUGU GAGGAGGGGAGAUUCAGUG

10

20

30

40

50

1400	UAGCUGUAUCGUCAAGGCACUCGUGCCGACGCCACCAGCUCCAACCACCACA AGGGGAGAGUCAGUCAGGGUCAGCAGGCCUCUCUCCCCGC
1401	UAGCUGUAUCGUCAAGGCACUCUUGCCGACGCCACCAGCUCCAACCACCACA AGUGUAUAGUCAGUCAUUUUCAGCAGGCCUCUCUCCCCGC
1402	UAGCUGGAUCGUCAAGGCACUCGUGCCGACGCCACCAGCUCCAACCACCACA AGGGGAGAGGCAGUCAGGGUCAGCAGGCCUCUCUCCCCGC
1403	GAUUCUGAAUUAGCUGUAUCGUCAAGGCACUCUUGCCGACGCCACCAGCUC CAACCACCACAAGUGUAUAGUCAGUCAUUUUCAGCAGGCCUCUCUCCCCGCAC CUGGGAGC
1404	GAUUCUGAAUUAGCUGUAUCGUCAAGGCACUCGUGCCGACGCCACCAGCUC CAACCACCACAAGUGGAGAGUCAGUCAUUUUCAGCAGGCCUCUCUCCCCGCAC CUGGGAGC
1405	GAUUCUGAAUUAGCUGUAUCGUCAAGGCACUCGUGCCGACGCCACCAGCUC CAACCACCACAAGGGGAGAGUCAGUCAGGGUCAGCAGGCCUCUCUCCCCGCAC CUGGGAGC
1406	GCUCCCCGGUGCGGGAGAGAGGCCUGCUGACCCUGACUGCCUCUCCCCUUGU GGUGGUUGGAGCUGGUGGCGUCGGCACGAGUGCCUUGACGAUCCAGCUAAU UCAGAAUC
1407	GCAGAGCCUCCAGC
1408	CUCACUGGCAGAGCCUCCAGC
1409	CCCUUGCUCACUGGCAGAGCCUCCAGC
1410	CUCUCGCCCUUGCUCACUGGCAGAGCCUCCAGC
1411	CUCUCGCCCUUGCUCACUGGCAGAGCCUCCAGCAUCGC
1412	UGAACAGCUCUCGCCCUUGCUCACUGGCAGAGCCUCCAGCAUCGC
1413	UGAACAGCUCUCGCCCUUGCUCACUGGCAGAGCCUCCAGCAUCGCGAGCA GGCGCUGCCUCCUCCGCC

10

20

30

40

50

【 0 1 3 6 】

表 12

SEQ ID NO.	Sequence 5' -> 3
1414	ACAAAUGGGGACGAGGGGGGCGGGGCGGCC
1415	CGGAGAGCAGAGAGGGAGCG
1416	AAAAAAAAAAGATCTTGAACTGTTTAAAGTTGGCCGATCTTAAAAA A
1417	UCAUAAUCAAUUUUAUUUUUCUUUUUAUUUUAUUCACAUAAUUUUG UUUUU

【 0 1 3 7 】

塩基に対する化学変換は、編集されたRNA配列の少なくとも部分的なノックダウンを生じ得る。前記化学変換は、編集されたRNA配列の実質的に完全なノックダウンを生じ得る。前記化学変換は、人工ポリヌクレオチド(例えば、環状の人工ガイドRNA)を受ける被験者に治療効果を与えるのに十分な編集されたRNA配列の部分的なノックダウンを生じ得る。編集されたRNA配列の少なくとも部分的なノックダウンは、発現されたタンパク質またはそのタンパク質断片のレベルの低減を生じ得る。レベルの低減は、約5%~100%であり得る。レベルの低減は、約10%~100%であり得る。レベルの低減は、約15%~100%であり得る。レベルの低減は、約20%~100%であり得る。レベルの低減は、約25%~100%であり得る。レベルの低減は、約30%~100%であり得る。レベルの低減は、約40%~100%であり得る。レベルの低減は、約50%~100%であり得る。レベルの低減は、約60%~100%であり得る。レベルの低減は、約70%~100%であり得る。レベルの低減は、約80%~100%であり得る。

【 0 1 3 8 】

人工ポリヌクレオチド（例えば、環状の人工ガイドRNA）は、化学変換を行うためにRNA編集のための核酸配列中の特定の配列領域または塩基を標的とするための標的指向性ドメインを含んでいてもよい。該人工ポリヌクレオチドはまた、リクルートドメインも含んでもよい。標的指向性ドメインは、アンチセンスRNA、短いヘアピンRNA、siRNA、miRNA、またはsnoRNAよりも長い配列長を含んでもよい。標的指向性ドメインは、人工ガイドRNAが二次構造を形成するのに十分な配列長を含んでもよい。いくつかの場合では、塩基は、ヌクレオチドを指すことができる。いくつかの場合では、ヌクレオチドは、塩基を指すことができる。標的指向性ドメインは、長さが約20個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含んでもよい。標的指向性ドメインは、長さが約50個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含んでもよい。標的指向性ドメインは、長さが約100個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含んでもよい。標的指向性ドメインは、長さが約200個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含んでもよい。標的指向性ドメインは、長さが約500個のヌクレオチドから約1,000個のヌクレオチドまでの配列長を含んでもよい。標的指向性ドメインは、長さが少なくとも約50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200個のヌクレオチドの配列長を含んでもよい。

10

【0139】

人工ガイドRNAの少なくとも一部（標的指向性ドメイン、リクルートドメイン、またはその両方）は、二次構造を含んでもよい。二次構造は、ステムループ、十字部、トウホール、ミスマッチバルジ、それらの2種以上、またはそれらの任意の組み合わせを含んでもよい。環状の人工ガイドRNAは、環状化されているが、環状化されていない実質的に類似の人工ガイドRNAと比較して、実質的に類似の二次構造を保持してもよい。

20

【0140】

いくつかの実施形態では、前記人工ポリヌクレオチドは、標的配列の所望の化学修飾の部位におけるミスマッチを除いて、修飾されるべき標的mRNA配列に相補的なアンチセンスRNA配列を含むか、または生成することができる。いくつかの実施形態では、前記アンチセンスRNA配列を環状化することができる。別の実施形態では、前記アンチセンスRNA配列は、任意に、ハイパー編集可能なアデノシンヌクレオチドを有する位置で標的RNA配列に関して他のミスマッチを含むことができる。さらに別の実施形態では、該任意のミスマッチは、標的RNA中の標的"A"はミスマッチ"C"の反対側にある時に、該標的RNA配列において"A"の代わりに"G"を含むことができる。さらに別の実施形態では、環状化されたアンチセンスガイドRNAは、化学的に修飾されるアデノシンでのミスマッチ及び30〜40塩基対の領域内において標的アデノシンと30〜40塩基対離れて作成された複数の6〜12塩基対のループを含むことができる。さらに別の実施形態では、前記環状化されたアンチセンスガイドRNAは、標的RNA鎖中のハイパー編集されたアデノウイルスと反対側のグアノシンミスマッチを位置決めすることによって生成される複数のバルジを含む。いくつかの実施形態では、該バルジは、-34、-24、-14、-10、0、10、14、24、34等のパターンに従って形成され、ここで、0は、所望の化学修飾の部位である。いくつかの実施形態では、該バルジは、-30、-20、-10、0、10、20、30等のパターンに従って形成され、ここで、0は、所望の化学修飾の部位である。前記の模式図は、図17に示されている。

30

40

【0141】

人工ガイドRNAは、1つ以上の修飾を含んでもよい。修飾は、修飾された塩基を包含してもよい。修飾は、前記人工ガイドRNAの1つ以上の塩基にグルコースまたは他の糖ベースの部分を加える等の糖修飾を包含してもよい。修飾は、前記人工ガイドRNAの少なくとも一部の上にタンパク質コーティングを包含してもよい。人工ガイドRNAの1つ以上のヌクレオチドは、メチル基、フルオロ基、メトキシエチル基、エチル基、リン酸塩基、アミド基、エステル基、またはこれらの任意の組み合わせを含んでもよい。修飾は、修飾されない実質的に類似の人工ガイドRNAと比較して、前記人工ガイドRNAの安定性または

50

半減期を増加することがある。

【0142】

いくつかの場合では、細胞または被験者に送達される人工ガイドRNAは、内因性RNA編集体のようなRNA編集体をリクルートしてもよい。いくつかの場合では、人工ガイドRNAをRNA編集体と共送達してもよい。いくつかの場合では、環状ガイドRNAは、非環状ガイドRNAと比較して、より多くの量のRNA編集体をリクルートしてもよい。いくつかの場合では、人工ガイドRNAは、少量の内因性RNA編集酵素を含有する組織位置への人工ガイドRNAの送達のような、編集を実行するのに十分な量の内因性RNA編集体をリクルートするように構成され得る。いくつかの場合では、人工ガイドRNAをRNA編集体と共送達してもよい。いくつかの場合では、RNA編集体を、細胞または被験者に別々に送達してもよい。いくつかの場合では、人工ガイドRNAは、RNA編集体に結合されるか、または直接に連結され得る。該結合され、または直接的な連結された組成物は、細胞または被験者に送達され得る。

10

【0143】

本開示のガイドRNAは、加水分解の影響を受けやすい末端を含まなく（欠如し）てもよい。いくつかの場合では、本開示のガイドRNAは、細胞中に天然に存在するmRNAよりも加水分解の影響を受けにくい二次構造を含んでもよい。本開示のガイドRNAは、5'還元性ヒドロキシルまたは3'ヒドロキシルのような溶媒に暴露され得る還元性ヒドロキシルを含まなく（欠落していない）てもよい。いくつかの場合では、5'ヒドロキシル、3'ヒドロキシル、またはその両方を、リン-酸素結合を介して結合させることができる。いくつかの実施形態では、5'ヒドロキシル、3'ヒドロキシル、またはその両方を、リン含有部分でホスホエステルに修飾することができる。本開示のガイドRNAは、露出された端部を含まなくともよい。本開示のガイドRNAは、5'末端及び3'末端を含まなくともよい。本開示のガイドRNAは、ガイドが環状であるか否かに関係なく、二次構造を保持してもよい。例えば、環状ガイドRNAは、ステムループ、十字部、トウホールド、ミスマッチバルジ、それらの2種以上、またはそれらの任意の組み合わせである二次構造を含んでもよい。環状ガイドRNAは、実質的に直鎖状である二次構造を含んでもよい。環状ガイドRNAは、RNA編集体のリクルートを改善するように修飾された二次構造、またはRNA編集体をリクルートできる天然構造を部分的に模倣する二次構造を含んでもよい。

20

【0144】

いくつかの場合では、環状ガイドRNAは、非環状の比較可能なガイドRNAよりも少なくとも約2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、または10倍長い半減期を含んでもよい。環状ガイドRNAの半減期は、非環状の比較可能なガイドRNAよりも約2倍～約5倍長いであってもよい。細胞または被験者に送達される環状ガイドRNAの半減期は、非環状の比較可能なガイドRNAより約3倍～約6倍長いであってもよい。

30

【0145】

細胞または被験者に送達される環状ガイドRNAは、細胞または被験者において、少なくとも約40分間、50分間、60分間、1.5時間、2時間、4時間、6時間、8時間、10時間、12時間、16時間、18時間、20時間、24時間、1.25日間、1.5日間、2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、10日間、14日間、またはそれ以上の半減期を含んでもよい。細胞または被験者に送達される環状ガイドRNAの半減期は、約1時間～約6時間であってもよい。細胞または被験者に送達される環状ガイドRNAの半減期は、約1時間～約24時間であってもよい。細胞または被験者に送達される環状ガイドRNAの半減期は、約1時間～約2日間であってもよい。細胞または被験者に送達される環状ガイドRNAの半減期は、約6時間～約24時間であってもよい。細胞または被験者に送達される環状ガイドRNAの半減期は、約6時間～約5日間であってもよい。

40

【0146】

いくつかの実施形態では、人工ガイドRNAを、細胞内で環状化するように構成することができる。環状RNA配列を形成するための構築物は、以下をコートするヌクレオチド配列を含んでもよい：(a)(i)RNA編集体リクルートドメイン、(ii)連結配列を含む環状化

50

のためのガイドRNA配列、及び(b)リボザイムまたはその触媒的活性断片。いくつかの場合では、該ヌクレオチド配列は、2つ以上の連結配列をコードしてもよい。いくつかの場合では、該ヌクレオチド配列は、2つ以上のリボザイムをコードしてもよい。前記2つ以上の連結配列は、異なってもよい。前記2つ以上のリボザイムは、異なってもよい。ガイドRNA配列の5'末端、3'末端、または両方を連結配列で隣接させてもよい。連結配列の5'末端または3'末端をリボザイムまたはその触媒的活性断片で隣接させてもよい。

【0147】

環状RNA配列を形成するための構築物は、以下をコードするヌクレオチド配列を含んでもよい：(a)環状化するためのRNA配列、(b)連結配列、及び(c)tRNA、アダプター、またはそれらの触媒的活性断片。いくつかの場合では、前記ヌクレオチド配列は、2つの連結配列をコードしてもよい。いくつかの場合では、前記ヌクレオチド配列は、2つの自己切断体（例えば、2つのtRNA、2つのアダプター、または組み合わせ）をコードしてもよい。前記ヌクレオチド配列は、2つの異なる連結配列をコードしてもよい。前記ヌクレオチド配列は、2つの異なるtRNA、2つの異なるアダプター、または組み合わせのような2つの異なる自己切断体をコードしてもよい。ガイドRNA配列の5'末端、3'末端、または両方は、連結配列で隣接されてもよい。連結配列の5'末端または3'末端には、tRNA、アダプター、または他の自己切断体で隣接されてもよい。

【0148】

環状RNAは、RNA配列の2つ以上の末端（5'末端及び3'末端のような）の間の連結（共有連結のような）を形成することによって、直接的または間接的に形成され得る。前記RNA配列は、人工ガイドRNA（例えば、リクルートドメイン、標的指向性ドメイン、またはその両方）を含んでもよい。前記連結は、リガーゼのような酵素を使用することによって形成されてもよい。いくつかの場合では、前記酵素は、酵素の生物学的活性断片であってもよい。前記酵素は、前記連結を形成するためにRNA配列にリクルートされてもよい。環状RNAは、連結要素を用いて、RNA配列の2つ以上の末端を連結することによって形成されてもよい。連結要素は、クリックケミストリーを用いて、環状RNAを形成してもよい。該連結要素は、アジドに基づく連結であってもよい。環状RNAは、環状RNAを遺伝的にコードすること、または化学的に合成することによって形成されてもよい。環状RNAは、リボザイム、tRNA、アダプター、これらのいずれかの触媒的活性断片、またはそれらの任意の組み合わせのような自己切断体を使用することによって形成されてもよい。自己切断リボザイムは、RNase Pを含んでもよい。

【0149】

ガイドは、環状ガイドであってもよい。図3A-Bを参照すると、環状の構築物を有する配列のいくつかの例が示されている。P3リボザイムの要素、Alu要素、アンチセンスガイド、標的Cミスマッチ、P1リボザイムが、各例示的な配列について示されている。例えば、環状ガイドは、図3に示されるAlu 60-30 R7AガイドのようなAluドメインを含んでもよい。環状ガイドは、図3に示されるAlu 100-50 R7AガイドのようなAluドメインを含んでもよい。いくつかの場合では、本明細書に記載される任意の方法で利用される環状ガイドまたはガイドは、図3の配列の少なくとも一部に対して、少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%の配列相同性を有する配列を含んでもよい。

【0150】

環状配列（例えば、環状RNAまたは環状DNA）を形成するために、1つ以上の方法を用いてもよい。図1A-Cにいくつかの方法が示されている。第1の方法は、例えば、図1A-Bに示されるように、遺伝子的にコードされた環状adRNAまたはapRNAを遺伝子操作することを含んでもよい。構築物は、環状RNAを自己触媒的に処理するように設計され得る。構築物は、ガイドRNA配列のような環状を作るために、配列をコードしてもよい。前記ガイドRNAは、標的指向性ドメイン及びRNA編集体リクルートドメインを包含してもよい。該RNA編集体リクルートドメインは、Aluドメイン、APOBECリクルートドメ

イン、GluR2ドメイン、Cas13リクルートドメイン、またはそれらの任意の組み合わせを包含してもよい。該構築物は、少なくとも1つの連結配列、いくつかの場合では2つの連結配列をコードしてもよい。該構築物は、少なくとも1つの自己切断分子、いくつかの場合では2つの自己切断分子をコードしてもよい。前記自己切断分子は、リボザイム、tRNA、または任意の他の自己切断分子を含んでもよい。いくつかの場合では、前記自己切断分子は、tRNAであってもよい。いくつかの場合では、環状を作るための配列の5'末端または3'末端の少なくとも1つは、リガーゼ、例えば内因性リガーゼによって認識される配列のような連結配列によって隣接されてもよい。いくつかの場合では、連結配列の5'末端または3'末端の少なくとも1つは、自己切断分子をコードする配列によって隣接されてもよい。構築物の一例は、図1Bの要素100として示されている。ポリメラーゼIII転写101は、典型的にはH1、U6または7SKプロモーターを用いて、コードされた構築物から転写されたRNA配列を生じる。次いで、該RNA配列を、自己触媒的に自己切断し、環状を作るための配列から自己切断部分103(該プロセスの副産物)を分離して、環状104(プレ-環状RNA)を作製してもよい。自己切断に続いて、環状を作るための配列は、5'末端にOH基及び3'末端に2',3'-環状リン酸塩基を有する連結配列によって隣接されてもよい。リガーゼ(例えば、内因性リガーゼ)は、連結配列を認識し、5'及び3'末端105を連結して、環状RNA106の形成をもたらす得る。該構築物の設計は、リボザイム、tRNA、または他のもののような任意の自己切断分子をコードし得る。該構築物の設計は、miR、RNAi、RNaseH、siRNA、ガイドRNA(CRISPRガイド)、またはその他のものの治療送達のためのRNAのような任意の環状を作るための配列をコードし得る。該構築物の設計は、任意のリガーゼによって認識される任意の連結配列をコードして、環状配列を形成するために直鎖状の構築物の末端を連結してもよい。リガーゼは、内因性リガーゼであってもよい。リガーゼは、該構築物と共に送達されてもよい。該構築物の設計は、特定のリガーゼまたは複数のリガーゼによる連結のために設計されてもよい。該方法は、図5に示されるように、予め曲げられた環状adRNAを形成することを含んでもよい。

10

20

【0151】

環状RNAを形成するための別の方法は、図1Cに示されるような、化学的に合成された環状adRNAまたはapRNAを含んでもよい。この場合、直鎖状のオリゴヌクレオチドの化学環状化は、107に示されるように、臭化シアンまたはカルボジイミド架橋剤1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドを架橋テンプレートと共に使用することで達成できる。他の場合では、環状DNAまたはRNAオリゴヌクレオチドの酵素的合成は、T4リガーゼで実施してもよい。これらの酵素は、108に示されるように、直鎖配列の末端上の反応性3'-ヒドロキシル(OH)基及び5'-リン酸塩(P04)基を環状化してもよい。構築物の設計は、図5に示されるように、予め曲げられた環状adRNAを形成することを含んでもよい。該方法は、図5に示されるように、予め曲げられた環状adRNAを形成することを含んでもよい。

30

【0152】

適切な自己切断分子は、リボザイムを含んでもよい。リボザイムは、RNase P、rRNA(例えば、ペプチジルトランスフェラーゼ23S rRNA)、リードザイム、グループIイントロンリボザイム、グループIIイントロンリボザイム、GIR1分枝リボザイム、glmSリボザイム、ヘアピンリボザイム、ハンマーヘッド型リボザイム、HDVリボザイム、ツイスターリボザイム、ツイスター姉妹リボザイム、VSリボザイム、ピストルリボザイム、ハチエットリボザイム、ウイロイド、またはそれらの任意の組み合わせを含んでもよい。

40

【0153】

適切なリガーゼ(または合成酵素)は、共有結合を形成するリガーゼを含んでもよい。共有結合は、炭素-酸素結合、炭素-硫黄結合、炭素-窒素結合、炭素-炭素結合、リン酸エステル結合、またはそれらの任意の組み合わせを含んでもよい。

【0154】

環状RNA配列(例えば、ガイド)を構築する経路は、特定の認識配列に結合し、切断された末端に5'ヒドロキシル基と2'-3'環状リン酸塩を生成するRNAスプライシングエンド

50

ヌクレアーゼで開始してもよい。これらの切断された末端は、リガーゼ、例えば内因性リガーゼ（例えば、遍在的に発現されたRNAリガーゼRtcB）によって一緒に連結されてもよい。この戦略を採用する利点として、追加の酵素が必要とされないであろう。RNA転写物は、リボザイム等の自己切断分子が隣接する目的のRNAを含むように発現させてもよい。リボザイムをコードする配列の追加によって、自己触媒RNAが生成されることがある。いくつかの場合では、リボザイムは、自発的な自己触媒切断を受ける可能性のあるP3 Twister及びP1 Twisterであってもよい。得られたRNAは、次にリガーゼ（例えば、遍在的に発現された内因性RNAリガーゼRtcB）に連結されてもよい5'及び3'末端を含んでもよい。adRNAの安定性を向上させることは、編集が長期の発現に依存するので、*in vivo*での研究に重大な影響を及ぼすことがある。前記方法、図5に示されるような、予め曲げられた環状adRNAを形成することを含んでいてもよい。

10

【0155】

本開示の一態様は、人工ガイドRNA、人工ガイドRNAを含むベクター、組成物、及びRNA編集のための医薬組成物を提供する。上記または本明細書に記載されるいずれのものも、A(アデノシン)からI(イノシン)への編集、C(シトシン)からT(チミン)への編集、またはそれらの組み合わせのために構成することができる。いくつかの場合では、AからIへの編集は、CからUへの突然変異として解釈され、または解読されることができる。いくつかの場合では、AからIへの編集は、AからGへの突然変異として解釈され、または解読されることができる。本明細書に記載されるような人工ガイドRNA、人工ガイドRNAを含むベクター、組成物、及び医薬組成物は、天然系と比較して、編集効率の向上、非特異的な編集の減少、安定性の向上、または*in vivo*での半減期の延長、またはそれらの任意の組み合わせを提供することができる。

20

【0156】

本開示の一態様は、ベクターを提供する。該ベクターは、以下をコードするポリヌクレオチド配列を有する核酸を含むことができる：(i)RNA編集体リクルートドメイン、(ii)標的RNAの少なくとも一部に相補的な標的指向性ドメイン、(iii)任意に、ドメイン(i)及び/または(ii)のいずれか、または(iv)それらの任意の組み合わせ。いくつかの場合では、該ベクターは、それを必要とする被験者のような被験者に投与することができる。いくつかの場合では、該ベクターは、医薬組成物の一部として、それを必要とする被験者のような被験者に投与することができる。いくつかの場合では、前記ポリヌクレオチド配列は、環状ガイドRNAをコードする。

30

【0157】

本開示の一態様は、天然に存在しないRNAを提供する。該天然に存在しないRNAは、以下を含むことができる：(i)RNA編集体リクルートドメイン、(ii)標的RNAの少なくとも一部に相補的な標的指向性ドメイン、(iii)任意に、ドメイン(i)及び/または(ii)のいずれか、または(iv)それらの任意の組み合わせ。いくつかの場合では、該天然に存在しないRNAは、環状である。いくつかの場合では、該天然に存在しないRNAは、露出された末端または一本鎖の末端を含まない(欠如している)。いくつかの場合では、該天然に存在しないRNAを、それを必要とする被験者のような被験者に投与することができる。いくつかの場合では、該天然に存在しないRNAを、医薬組成物の一部として、それを必要とする被験者のような被験者に投与することができる。いくつかの場合では、該天然に存在しないRNAを投与のためにベクター中に製剤化することができる。前期ベクターは、ウイルスベクター、リボソーム、ナノ粒子、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。いくつかの場合では、該天然に存在しないRNAは、少なくとも1つの塩基、少なくとも1つの糖、それらのいずれかの2つ以上、または化学修飾のような修飾を有するそれらの組み合わせを含むことができる。

40

【0158】

人工ガイドRNAは、1つ以上のドメインを含むことができ、例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、またはそれ以上のドメインを含むことができる。いくつかの場合では、人工ガイドRNAは、リクルートドメイン、標的指向性ドメイン、それらのいずれかの2つ以上

50

、またはそれらの組み合わせを含むことができる。いくつかの場合では、人工ガイドRNAは、標的指向性ドメイン及びリクルートドメインを含むことができる。いくつかの場合では、人工ガイドRNAは、1つの標的指向性ドメイン及び2つのリクルートドメインを含むことができる。

【0159】

ドメインは、二次元形状または二次構造を形成することができる。例えば、標的指向性ドメイン、リクルートドメイン、またはそれらの組み合わせは、直鎖領域、十字部またはその一部、トウホールド、ステムループ、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる二次構造を形成することができる。該ドメイン自体は、実質的に直鎖状の二次元構造を形成することができる。該ドメインは、十字部を含むことができる二次構造を形成することができる。該ドメインは、ステムループを含むことができる二次構造を形成することができる。該ドメインは、トウホールドを含むことができる二次構造を形成することができる。

10

【0160】

いくつかの場合では、標的指向性ドメインは、リクルートドメインに隣接して配置することができる。これは、直接に隣接、または隣接しているが、いくつかのヌクレオチド（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個、30個、またはそれ以上のヌクレオチド）で分離されていることを含む。いくつかの場合では、標的指向性ドメインには、2つのリクルートドメインが隣接する場合がある。いくつかの場合では、2つ以上のリクルートドメインを互いに隣接させることができる。

20

【0161】

ドメインの二次元形状または二次構造は、異なる二次元形状または二次構造を形成することができる核酸と比較して、編集の効率、非特異的な効果、またはそれらの組み合わせに影響することができる。従って、本開示の一態様は、二次元形状が、編集の効率を向上させ、非特異的な効果を低減させるように有利に設計され得るように、核酸を修飾することを含む。天然に存在するリクルートドメインを含む配列に対する修飾はまた、編集の効率を向上させ、非特異的な効果を低減させることができる。従って、本開示の一態様は、配列（例えば、合成配列）が、編集の効率を向上させ、非特異的な効果を低減させるように有利に設計され得るように、核酸を修飾することを含む。修飾は、ドメインの長さを改変すること（例えば、長さの延長）、二次構造の変化をもたらす天然配列を改変すること、化学修飾を加えること、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。本明細書に記載される核酸は、これらの利点を提供することができる。修飾は、環状形態のガイドRNAを提供することを含むことができる。修飾は、1つ以上の露出された末端または1つ以上の一本鎖末端を除去するために環状ガイドRNAを形成することを含むことができる。ガイドRNAの環状化により、ガイドRNAがステムループや十字形等の二次構造を保持できるようになる場合がある。

30

【0162】

いくつかの場合では、リクルートドメインは、Aluドメインの少なくとも約15個、20個、25個、30個、または35個の核酸に対して少なくとも約80%、85%、90%、または95%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、Aluドメインをコードする配列に対して少なくとも約80%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、Aluドメインをコードする配列に対して少なくとも約85%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、Aluドメインをコードする配列に対して少なくとも約90%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、Aluドメインをコードする配列に対して少なくとも約95%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、該Aluドメインをコードする配列は、天然に存在しない配列であってもよい。いくつかの場合では、該Aluドメインをコードする配列は、修飾された部分を含むことができる。いくつかの場合では、Aluドメインをコードする配列は、天然に存在するAluドメイン配列の一部を含

40

50

むことができる。

【0163】

いくつかの場合では、リクルートドメインは、APOBECリクルートドメインの少なくとも約15個、20個、25個、30個、または35個の核酸に対して少なくとも約80%、85%、90%、または95%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、APOBECリクルートドメインコード配列に対して少なくとも約80%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、APOBECリクルートドメインコード配列に対して少なくとも約85%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、APOBECリクルートドメインコード配列に対して少なくとも約90%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、APOBECリクルートドメインコード配列に対して少なくとも約95%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、該APOBECリクルートドメインコード配列は、天然に存在しない配列であってもよい。いくつかの場合では、該APOBECリクルートドメインコード配列は、修飾された部分を含むことができる。いくつかの場合では、該APOBECリクルートドメインコード配列は、天然に存在するAPOBECリクルートドメイン配列の一部を含むことができる。

10

【0164】

いくつかの場合では、リクルートドメインは、GluR2ドメインの少なくとも約15個、20個、25個、30個、または35個の核酸に対して少なくとも約80%、85%、90%、または95%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、GluR2ドメインをコードする配列に対して少なくとも約80%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、GluR2ドメインをコードする配列に対して少なくとも約85%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、GluR2ドメインをコードする配列に対して少なくとも約90%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、GluR2ドメインをコードする配列に対して少なくとも約95%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、GluR2ドメインをコードする配列は、天然に存在しない配列であってもよい。いくつかの場合では、GluR2ドメインをコードする配列は、修飾された部分を含むことができる。いくつかの場合では、GluR2ドメインをコードする配列は、天然に存在するGluR2ドメイン配列の一部を含むことができる。

20

30

【0165】

いくつかの場合では、リクルートドメインは、Cas13リクルートドメインの少なくとも約15個、20個、25個、30個、または35個の核酸に対して少なくとも約80%、85%、90%、または95%の配列相同性を含むことができる。該Cas13リクルートドメインは、Cas13aリクルートドメイン、Cas13bリクルートドメイン、Cas13cリクルートドメイン、またはCas13dリクルートドメインであってもよい。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、Cas13リクルートドメインをコードする配列に対して少なくとも約80%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、Cas13リクルートドメインをコードする配列に対して少なくとも約85%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、Cas13リクルートドメインをコードする配列に対して少なくとも約90%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、Cas13リクルートドメインをコードする配列に対して少なくとも約95%の配列相同性を含むことができる。いくつかの場合では、該Cas13リクルートドメインをコードする配列は、天然に存在しない配列であってもよい。いくつかの場合では、該Cas13リクルートドメインをコードする配列は、修飾された部分を含むことができる。いくつかの場合では、該Cas13リクルートドメインをコードする配列は、天然に存在するCas13リクルートドメイン配列の一部を含むことができる。

40

50

【0166】

いくつかの場合では、リクルートドメインの少なくとも一部は、ADARをリクルートする、APOBECをリクルートする、またはそれらの組み合わせをリクルートするコード配列に識別する少なくとも約80%の配列を含むことができる。

【0167】

いくつかの場合では、人工ポリヌクレオチドは、少なくとも1つのRNA編集体リクルートドメインをコードすることができる。いくつかの場合では、該人工ポリヌクレオチドは、標的RNAの少なくとも一部に相補的なRNAをコードすることができる。いくつかの場合では、該人工ポリヌクレオチドは、リクルートドメイン及び標的指向性ドメインをコードすることができる。いくつかの場合では、該人工ポリヌクレオチドは、環状ガイドRNAをコードすることができる。いくつかの場合では、該人工ポリヌクレオチドは、リクルートドメイン及び標的指向性ドメインをコードできる核酸をコードすることができる。前記標的RNAの部分は、単一のヌクレオチド塩基を含むことができる。前記標的RNAの部分は、複数の塩基を含むことができる。前記標的RNAの部分は、約2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、20個、30個、40個、50個、60個、70個、100個、200個、300個、400個、500個、600個、700個、800個、900個、1000個、またはそれ以上の塩基対を含むことができる。いくつかの場合では、前記標的RNAは、約1 bps～約10 bpsを含むことができる。いくつかの場合では、前記標的RNAは、約10 bps～約100 bpsを含むことができる。いくつかの場合では、前記標的RNAは、約10 bps～約500 bpsを含むことができる。いくつかの場合では、前記標的RNAは、約10 bps～約1000 bpsを含むことができる。標的指向性ドメイン及びリクルートドメインを含む人工ポリヌクレオチドは、長さが少なくとも約200 bpの連続した配列を含むことができる。標的指向性ドメイン及びリクルートドメインを含む人工ポリヌクレオチドは、長さが少なくとも約150 bpの連続した配列を含むことができる。標的指向性ドメイン及びリクルートドメインを含む人工ポリヌクレオチドは、長さが少なくとも約250 bpの連続した配列を含むことができる。標的指向性ドメイン及びリクルートドメインを含む人工ポリヌクレオチドは、長さが少なくとも約275 bpの連続した配列を含むことができる。標的指向性ドメイン及びリクルートドメインを含む人工ポリヌクレオチドは、長さが少なくとも約300 bpの連続した配列を含むことができる。標的指向性ドメイン及びリクルートドメインを含む人工ポリヌクレオチドは、長さが少なくとも約400 bpの連続した配列を含むことができる。標的指向性ドメイン及びリクルートドメインを含む人工ポリヌクレオチドは、長さが少なくとも約500 bpの連続した配列を含むことができる。

【0168】

ベクターは、人工ポリヌクレオチドを送達するために使用することができる。ベクターは、二本鎖DNAまたは一本鎖DNAのようなDNAを含むことができる。ベクターは、RNAを含むことができる。いくつかの場合では、該RNAは、1つ以上の塩基修飾を含むことができる。前記ベクターは、組換えベクターを含むことができる。いくつかの場合では、該ベクターは、天然に存在するベクターから修飾されたベクターであってもよい。該ベクターは、天然に存在しないベクターの少なくとも一部を含むことができる。任意のベクターを利用することができる。いくつかの場合では、前記ベクターは、ウイルスベクター、リポソーム、ナノ粒子、エクソソーム、細胞外小胞、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。いくつかの場合では、ウイルスベクターは、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター(AAV)、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、これらのいずれかの一部、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。いくつかの場合では、ナノ粒子ベクターは、ポリマーをベースとするナノ粒子、アミノ脂質をベースとするナノ粒子、金属ナノ粒子(例えば、金をベースとするナノ粒子)、これらのいずれかの一部、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。いくつかの場合では、ベクターは、AAVベクターを含むことができる。ベクターは、修飾されたVP1タンパク質(例えば、VP1タンパク質を含むように修飾されたAAVベクター等)を含むように修飾することができる。AAVは、血清型を含むことができる。例えば、AAV1血清

10

20

30

40

50

型、AAV2血清型、AAV3血清型、AAV4血清型、AAV5血清型、AAV6血清型、AAV7血清型、AAV8血清型、AAV9血清型、これらのいずれかの誘導体、またはそれらの任意の組み合わせ等。

【0169】

ガイドRNAを含む人工ポリヌクレオチドの投与は、一回の投与で、治療の過程全体にわたって連続的または断続的に行うことができる。最も有効な手段及び投与量を決定する方法は、当業者に公知であり、治療用の組成物、治療目的、治療される標的細胞、及び治療される被験者に応じて変化し得る。単回または複数回の投与は、治療医によって選択される用量レベル及びパターンで行うことができる。適切な投与製剤及び該製剤の投与方法は、当該技術分野で知られている。投与経路も決定することができ、最も有効な投与経路を決定する方法は、当業者に知られており、治療用の組成物、治療目的、治療される被験者の健康状態または疾患の段階、及び標的細胞または組織に応じて変化し得る。投与経路の非限定的な例には、経口投与、経鼻投与、注射、及び局所適用が含まれる。

【0170】

投与は、生物学的作用の所望の部位への化合物または組成物（例えば、DNA構築物、ウイルスベクター等）の送達を可能にするために使用できる方法を指すことができる。これらの方法は、皮膚のような表面の外表面への局所投与（ローション、クリーム、軟膏等）を含むことができる。これらの方法は、非経口投与（静脈内、皮下、髄腔内、眼窩内、筋肉内、血管内または点滴を含む）、経口投与、吸入投与、十二指腸内投与、及び直腸投与を含むことができる。いくつかの場合では、被験者は、前記組成物を監督なしで投与することができる。いくつかの場合では、被験者は、前記組成物を医療専門家（例えば、医師、看護婦、医師の補助者、指示者、ホスピスの従事者等）の監督下で投与することができる。いくつかの場合では、医療専門家は、前記組成物を投与することができる。いくつかの場合では、美容師は、前記組成物を投与することができる。

【0171】

本明細書に開示される組成物の投与または施用は、少なくとも約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、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、または100日連続または非連続的な日数の治療期間で実施することができる。いくつかの場合では、治療期間は、約1～約30日、約2～約30日、約3～約30日、約4～約30日、約5～約30日、約6～約30日、約7～約30日、約8～約30日、約9～約30日、約10～約30日、約11～約30日、約12～約30日、約13～約30日、約14～約30日、約15～約30日、約16～約30日、約17～約30日、約18～約30日、約19～約30日、約20～約30日、約21～約30日、約22～約30日、約23～約30日、約24～約30日、約25～約30日、約26～約30日、約27～約30日、約28～約30日、または約29～約30日であり得る。

【0172】

本明細書に開示される組成物の投与または適用は、1日あたり少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24回実施することができる。いくつかの場合では、本明細書に開示される組成物の投与または適用は、1週間あたり少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、または21回実施することができる。いくつかの場合では、本明細書に開示される組成物の投与または適用は、1月あたり少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、

68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、または90回実施することができる。

【0173】

いくつかの場合では、組成物は、単一用量としてまたは分割用量として投与または適用することができる。いくつかの場合では、本明細書に記載の組成物は、第一時点及び第二時点で投与することができる。いくつかの場合では、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、16時間、20時間、1日間、2日間、4日間、7日間、2週間、4週間、2ヶ月間、3ヶ月間、4ヶ月間、5ヶ月間、6ヶ月間、7ヶ月間、8ヶ月間、9ヶ月間、10ヶ月間、11ヶ月間、1年間、またはそれ以上の投与時間差で最初の投与が他の投与の前に投与されるように組成物を投与することができる。

10

【0174】

環状RNA配列のin vitro半減期は、実質的に比較可能な直鎖のRNA配列と比較して、少なくとも約1倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、5倍、10倍、20倍、またはそれ以上であってもよい。環状RNA配列のin vivo半減期は、実質的に比較可能な直鎖のRNA配列と比較して、少なくとも約1倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、5倍、10倍、20倍、またはそれ以上であってもよい。それを必要とする被験者に投与される環状RNA配列を含む組成物の投与量は、それを必要とする該被験者に投与される実質的に比較可能な直鎖のRNA配列を含む組成物と比較して、少なくとも約1倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、5倍、10倍、または20倍少ないであってもよい。2回以上の治療として与えられる実質的に比較可能な直鎖のRNA配列を含む組成物と比較して、それを必要とする被験者に投与される環状RNA配列を含む組成物は、1回の治療として与えられ得る。

20

【0175】

組成物は、活性剤、例えば、本開示の人工ガイドRNA、化合物または組成物、天然または非天然の担体、不活性（例えば、検出可能な薬剤または標識）または活性物質（例えば、アジュバント、希釈剤、結合剤、安定剤、緩衝液、塩、親油性溶媒、保存剤、アジュバント等）の組み合わせを含んでもよく、また、製剤的に許容される担体を含む。担体はまた、医薬賦形剤及び添加タンパク質、ペプチド、アミノ酸、脂質、及び炭水化物（例えば、単糖、二糖、三糖、四糖、及びオリゴ糖を含む糖、アルジトール、アルドリン酸、エステル化糖等の誘導体化糖、及び多糖または糖ポリマー）を含み、これらは、単独でまたは組み合わせて存在することができ、単独で、または1～99.99重量または容量%の組み合わせを含むことができる。例示的なタンパク質賦形剤には、ヒト血清アルブミン(HSA)、組換えヒトアルブミン(rHA)、ゼラチン、カゼイン等の血清アルブミンが含まれる。緩衝容量にも機能し得る代表的なアミノ酸/抗体成分には、アラニン、アルギニン、グリシン、アルギニン、ペタイン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、システイン、リジン、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニン、フェニルアラニン、アスパルテム等が含まれる。炭水化物賦形剤はまた、該技術範囲内で意図されており、その例としては、フルクトース、マルトース、ガラクトース、グルコース、D-マンノース、ソルボース等のような単糖類；ラクトース、スクロース、トレハロース、セロビオース等のような二糖類；ラフィノース、メレジトース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプン等のような多糖類；及びマンニトール、キシリトール、マルチトール、ラクチトール、キシリトールソルビトール（グルシトール）及びミオイノシトール等のアルジトール等が含まれるが、これらに限定されない。

30

40

【0176】

いくつかの実施形態では、キットは、ガイドRNAを含むことができる。いくつかの場合では、キットは、人工ポリヌクレオチド、人工ガイドRNA、環状ガイドRNA配列を形成するための構築物、人工ポリヌクレオチド含むベクター、該人工ポリヌクレオチドの核酸、医薬組成物、及び容器を含むことができる。いくつかの場合では、容器を滅菌することができる。いくつかの例では、容器は、プラスチック、ガラス、金属、またはそれらの任意の組み合わせであり得る。いくつかの場合では、キットは、それを必要とする被験者

50

に対する投与説明のような使用説明書を含むことができる。いくつかの実施形態では、キットの作製方法は、本明細書に記載されるポリヌクレオチドを容器に加えることを含むことができる。

【0177】

医薬組成物は、第1活性成分を含むことができる。該第1活性成分は、本明細書に記載のベクターまたは人工ガイドRNAを含むことができる。該医薬組成物は、単位用量形態で製剤化することができる。該医薬組成物は、薬剂的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体を含むことができる。該医薬組成物は、第2、第3、または第4の活性成分を含むことができる。

【0178】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、分子のミリグラム(mg)、ミリグラム/キログラム(mg/kg)、コピー個数、または個数で製剤化することができる。

【0179】

本明細書に記載の組成物は、賦形剤を含むことができる。賦形剤は、DMSO、グリセロール、ポリビニルピロリドン(PVP)、またはそれらの任意の組み合わせのような低温保存剤を含むことができる。賦形剤は、スクロース、トレハロース、デンプン、これらのいずれかの塩、これらのいずれかの誘導体、またはそれらの任意の組み合わせのような低温保存剤を含むことができる。賦形剤は、(前記組成物の成分の酸化または分解を最小にするため)pH剤、(前記組成物の成分の変性または分解を防止するため)安定化剤、(温度に対する安定性を向上させるため)緩衝剤、(タンパク質溶解度を増加させるため)可溶化剤、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。賦形剤は、界面活性剤、糖、アミノ酸、酸化防止剤、塩、非イオン性界面活性剤、可溶化剤、トリグリセリド、アルコール、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。賦形剤は、炭酸ナトリウム、酢酸塩、クエン酸塩、リン酸塩、ポリ-エチレングリコール(PEG)、ヒト血清アルブミン(HSA)、ソルビトール、スクロース、トレハロース、ポリソルベート80、リン酸ナトリウム、スクロース、リン酸二ナトリウム、マンニトール、ポリソルベート20、ヒスチジン、クエン酸塩、アルブミン、水酸化ナトリウム、グリシン、クエン酸ナトリウム、トレハロース、アルギニン、酢酸ナトリウム、酢酸塩、HCl、エデト酸二ナトリウム、レシチン、グリセリン、キサンタンガム、大豆イソフラボン、ポリソルベート80、エチルアルコール、水、テブレノン、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができる。賦形剤は、アメリカ薬剤師会の「医薬賦形剤ハンドブック」(1986)に記載されている賦形剤とすることができる。

【0180】

適切な賦形剤の非限定的な例は、緩衝剤、保存剤、安定剤、結合剤、圧縮剤、潤滑剤、キレート剤、分散促進剤、崩壊剤、香料、甘味料、着色剤を含むことができる。

【0181】

いくつかの場合では、賦形剤は、緩衝剤であってもよい。適切な緩衝剤の非限定的な例は、クエン酸ナトリウム、炭酸マグネシウム、重炭酸マグネシウム、炭酸カルシウム、及び炭酸水素カルシウムを含むことができる。緩衝剤としては、重炭酸ナトリウム、重炭酸カリウム、水酸化マグネシウム、乳酸マグネシウム、グルコミン酸マグネシウム、水酸化アルミニウム、クエン酸ナトリウム、酒石酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、ポリリン酸ナトリウム、ポリリン酸カリウム、ピロリン酸ナトリウム、ピロリン酸カリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素二カリウム、リン酸三ナトリウム、リン酸三カリウム、メタリン酸カリウム、酸化マグネシウム、水酸化マグネシウム、炭酸マグネシウム、ケイ酸マグネシウム、酢酸カルシウム、グリセロリン酸カルシウム、塩化カルシウム、水酸化カルシウム、及び他のカルシウム塩、またはそれらの組み合わせを医薬製剤に使用することができる。

【0182】

いくつかの場合では、賦形剤は、保存剤を含むことができる。適切な保存剤の非限定的な例として、酸化防止剤(例えば、 α -トコフェロール及びアスコルビン酸塩)及び抗微

10

20

30

40

50

生物剤（例えば、パラベン、クロロブタノール、及びフェノール）を含むことができる。酸化防止剤は、さらに、EDTA、クエン酸、アスコルビン酸、ブチル化ヒドロキシトルエン(BHT)、ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA)、亜硫酸ナトリウム、p-アミノ安息香酸、グルタチオン、プロピルガレート、システイン、メチオニン、エタノール、及びN-アセチルシステインを含むことができる。いくつかの場合では、保存剤は、バリダマイシンA、TL-3、オルトバナジン酸ナトリウム、フッ化ナトリウム、N-a-トシル-Phe-クロロメチルケトン、N-a-トシル-Lys-クロロメチルケトン、アプロチニン、フェニルメチルスルホニルフッ化物、ジイソプロピルフルオロリン酸、キナーゼ阻害剤、ホスファターゼ阻害剤、カスパーゼ阻害剤、グランザイム阻害剤、細胞接着阻害剤、細胞分裂阻害剤、細胞周期阻害剤、脂質シグナル伝達阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、還元剤、アルキル化剤、抗菌剤、オキシダーゼ阻害剤、または他の阻害剤を含むことができる。

10

【0183】

いくつかの場合では、医薬製剤は、賦形剤として結合剤を含むことができる。適切な結合剤の非限定的な例は、デンプン、アルファ化デンプン、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、セルロース、メチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、エチルセルロース、ポリアクリルアミド、ポリビニルオキサゾリドン、ポリビニルアルコール、C12~C18脂肪酸アルコール、ポリエチレングリコール、ポリオール、糖類、オリゴ糖、及びそれらの組み合わせを含むことができる。

【0184】

医薬製剤に使用できる結合剤は、馬鈴薯デンプン、トウモロコシデンプン、小麦デンプン等のデンプン；スクロース、グルコース、デキストロース、ラクトース、マルトデキストリン等の糖；天然及び合成ゴム；ゼラチン；微結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース等のセルロース誘導体；ポリビニルピロリドン(ポビドン)；ポリエチレングリコール(PEG)；ワックス；炭酸カルシウム；リン酸カルシウム；ソルビトール、キシリトール、マンニトール等のアルコール、及び水、またはそれらの組み合わせから選択することができる。

20

【0185】

いくつかの場合では、医薬製剤は、賦形剤として潤滑剤を含むことができる。適切な潤滑剤の非限定的な例は、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸亜鉛、水素化植物油、ステロテックス、ポリオキシエチレンモノステアレート、タルク、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム、及び軽質鉱油を含むことができる。医薬製剤に使用することができる潤滑剤は、金属ステアリン酸塩（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸アルミニウム）、脂肪酸エステル（例えば、フマル酸ステアリルナトリウム）、脂肪酸（例えば、ステアリン酸）、脂肪アルコール、グリセリルベヘネート、鉱油、パラフィン、水素化植物油、ロイシン、ポリエチレングリコール(PEG)、金属ラウリル硫酸塩（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム）、塩化ナトリウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、及びタルク、またはこれらの組み合わせから選択することができる。

30

40

【0186】

いくつかの場合では、医薬製剤は、賦形剤として分散増強剤を含むことができる。適切な分散剤の非限定的な例は、デンプン、アルギン酸、ポリビニルピロリドン、グアーガム、カオリン、ベントナイト、精製木材セルロース、ナトリウム澱粉グリコレート、同形ケイ酸塩、及び高HLB乳化剤界面活性剤としての微結晶セルロースを含むことができる。

【0187】

いくつかの場合では、医薬製剤は、賦形剤として崩壊剤を含むことができる。いくつかの場合では、崩壊剤は、非発泡性崩壊剤であってもよい。適切な非発泡性崩壊剤の非限定的な例には、トウモロコシデンプン、ジャガイモ澱粉、アルファ化及び変性デンプンのようなデンプン、甘味料、ベントナイトのような粘土、微結晶セルロース、アルギン酸塩、

50

デンプングリコール酸ナトリウム、寒天のようなガム、グアー、イナゴマメ、カラヤ、ペクチン、及びトラガントが含まれる。いくつかの場合では、崩壊剤は、発泡性崩壊剤であってもよい。適切な発泡性崩壊剤の非限定的な例は、クエン酸と組み合わせた重炭酸ナトリウム、及び酒石酸と組み合わせた重炭酸ナトリウムを含むことができる。

【0188】

いくつかの場合では、賦形剤は、香味剤を含むことができる。外層に配合される香味剤は、合成香味油及び風味付け芳香族；天然油；植物、葉、花及び果実からの抽出物；及びそれらの組み合わせから選択することができる。いくつかの場合では、香味剤は、シナモン油；ウィンターグリーンオイル；ペパーミント油；クローバーオイル；干し草油；アニス油；ユーカリ油；バニラ；レモン油、オレンジ油、ブドウ及びグレープフルーツ油のような柑橘類の油；及びリンゴ、桃、セイヨウナシ、イチゴ、ラズベリー、チェリー、プラム、パイナップル、及びアプrikottを含むフルーツエッセンスからなる群から選択することができる。

10

【0189】

いくつかの場合では、賦形剤は、甘味料を含むことができる。適切な甘味料の非限定的な例は、グルコース(トウモロコシシロップ)、デキストロース、転化糖、フルクトース、及びそれらの混合物(担体として使用しない場合)；サッカリン及びその様々な塩、例えばナトリウム塩；ジペプチド甘味料、例えばアスパルテム；ジヒドロカルコン化合物、グリチルリチン；ステビアレバウディアナ(ステビオサイド)；スクロースのクロロ誘導体、例えばスクラロース；及び糖アルコール、例えばソルビトール、マンニトール、シリトール等を含むことができる。

20

【0190】

被験者、宿主、個体、及び患者は、任意の真核生物または原核生物を指すために、本明細書では互換的に使用されてもよい。いくつかの場合では、被験者は、哺乳動物のような動物を指すことができる。哺乳動物には、本明細書に記載のベクター、人工ガイドRNA、細胞または組成物を投与することができる。哺乳動物の非限定的な例は、ヒト、非ヒト霊長類(例えば、類人猿、テナガザル、チンパンジー、オランウータン、サル、マカク等)、飼育動物(例えば、イヌ及びネコ)、家畜(例えば、ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ)、及び実験動物(例えば、マウス、ラット、ウサギ、モルモット)を含む。いくつかの実施形態では、哺乳動物は、ヒトである。哺乳動物は、任意の年齢であってもよく、任意の発育段階(例えば、成人、十代、子供、幼児、または子宮内の哺乳動物)であってもよい。哺乳動物は、雄性であってもよく、雌であってもよい。哺乳動物は、妊娠中の雌であってもよい。いくつかの実施形態では、被験者は、ヒトである。いくつかの実施形態では、被験者は、癌または腫瘍性障害を有するか、または疑われる。他の実施形態では、被験者は、異常なタンパク質発現に関連する疾患または障害を有するか、または疑われる。いくつかの場合では、ヒトは、約1日から約10ヶ月まで、約9ヶ月から約24ヶ月まで、約1歳から約8歳まで、約5歳から約25歳まで、約20歳から約50歳まで、約1歳から約130歳まで、または約30歳から約100歳までの年齢であってもよい。ヒトは、約1、2、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、または120歳以上の年齢であってもよい。ヒトは、約1、2、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、または130歳未満の年齢であってもよい。

30

40

【0191】

疾患または状態は、神経変性疾患、筋肉障害、代謝障害、眼障害、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。該疾患または状態は、嚢胞性線維症、白皮症、 α -1-アンチトリプシン欠乏症、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、喘息、 β -地中海貧血症、カダシル症候群、シャルコー・マリー・トゥース病、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、遠位脊髄性筋萎縮(DSMA)、デュシェンヌ/ベッカー型筋ジストロフィー、ジストロフィー表皮水疱症、表皮水疱症、ファブリー病、因子Vライデン関連障害、家族性大腸腺腫症、ポリープ症、ガラクトース血症、ゴーシェ病、グルコース-6-リン酸脱水素酵素、血友病、遺伝性ヘモクロマトーシス、ハンター症候群、ハンチントン病、ハーラー症候群、炎

50

症性腸疾患(IBD)、遺伝性多血球凝集症候群、レーバー先天黒内障、レッシュ・ナイハン症候群、リンチ症候群、マルファン症候群、ムコ多糖症、筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィーI及びII、神経線維腫症、ニーマンピック病A型、B型及びC型、NY-esol関連癌、パーキンソン病、ポイツ・ジェガース症候群、フェニルケトン尿症、ポンペ病、一次毛様疾患、プロトロンビン突然変異関連障害、例えば、プロトロンビンG20210A突然変異、肺高血圧症、網膜色素変性症、サンドホフ病、重症複合免疫不全症候群(SCID)、鎌状細胞貧血、脊髄性筋萎縮症、シュタルガルト病、テイ・サックス病、アッシャー症候群、X-結合免疫不全、及び種々の形態の癌(例えば、BRCA1及び2関連の乳癌及び卵巣癌)を含むことができる。該疾患または状態は、筋ジストロフィー、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損、網膜色素変性症、乳癌、卵巣癌、アルツハイマー病、疼痛、シュタルガルト黄斑ジストロフィー、シャルコー・マリー・トゥース病、レット症候群、またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。組成物の投与は、(a)投与前の遺伝子の発現に対して遺伝子の発現を減少させ、(b)被験者、例えば、それを必要とする被験者における少なくとも1つの点変異を編集し、(c)被験者における少なくとも1つの停止コドンを編集し、停止コドンのリードスルーを産生し、(d)被験者におけるエクソンスキップを産生し、または(e)それらの任意の組み合わせを達成するのに十分であり得る。疾患または状態は、筋ジストロフィーを含んでもよい。筋ジストロフィーは、筋緊張性の、デュシェンヌ型の、ベッカー型の、肢帯型の、発赤外上腕骨の、先天性の、眼咽頭の、遠位の、及びエメリー・ドレイフス型のもの、またはそれらを任意に組み合わせたものを包含してもよい。疾患または状態は、慢性疼痛のような疼痛を含んでもよい。疼痛は、神経障害性疼痛、侵害受容性疼痛、またはそれらの組み合わせを包含してもよい。侵害受容性疼痛は、内臓痛、体性疼痛、またはそれらの組み合わせを包含してもよい。

10

20

【実施例】

【0192】

実施例1 ADAR1の標的へのリクルートを改善することによって、またはadRNAのより長い持続性を可能にすることによって、またはこの2つの組み合わせによって、内因性ADARを介したRNA編集のプロセスを、より効率的にすることができる。Alu要素は、ADAR1のための既知の基質であるため、Aluドメインを有するadRNAを遺伝操作することは、標的へのADAR1のリクルートを改善するかもしれないと仮定された。従って、3つのバージョンのAlu adRNAが、Aluコンセンサス配列のさまざまな位置にアンチセンスドメインを注意深く配置し、HE293FT細胞のRAB7A転写物の3'UTRのアデノシンで編集するためにアッセイすることによって産生された(図9A、12A-B)。さらに、異なる長さのアンチセンスドメインを試験した(図12C)。長鎖アンチセンスadRNA上のAluドメインの添加は、内因性ADARを介したRNA編集の効率を著しく改善しなかった(図9A)が、Alu-v2 adRNAは、ADAR1のIFN誘導性アイソフォームである過剰発現したADAR1-150をリクルートするのに非常に効率的であった(図12B-C)。

30

【0193】

未修飾RNAは、典型的には短い半減期を有する。本開示は、adRNAのより長い持続性を可能にするための方法及び組成物を提供する。siRNAの安定性を改善することが示されているU6+27カセットを試験した。長アンチセンスadRNAにU6+27を添加すると、RAB7A転写物の編集がわずかに改善された(図9A)。さらに、環状RNAは、数日間にわたって細胞内に持続することが知られているため、内因性ADARを動員するための環状adRNAを作成することが可能かどうか疑問視された。哺乳動物細胞におけるU6転写された環状RNAを調べた(図13A)。環状adRNAを、種々のアンチセンス長で作成し、cyp19a1シフエラーゼ(c1uc)転写物において中途停止コドンを修復するそれらの能力についてアッセイされた(図13B)。HEK293FT細胞におけるadRNAの環状化は、環状化されたRNAのみを選択的に増幅するプライマーを設計することにより、RT-PCRを介して確認された(図9B)。アンチセンス長100 bp及び200 bpの環状adRNAを用いて、RAB7A転写物の35~38%の編集が観察され、遺伝子導入の2日後に、長アンチセンスadRNAの3.5倍の効率向上及びAlu adRNA及びU6+27adRNAの2倍の改善が観察された(

40

50

図9A)。さらに、環状adRNAを使用すると、遺伝子導入の4日後のRNA編集の著しいレベルの持続も観察されたが、一方、直鎖形態による編集の場合はほとんど存在しなかった(図9C)。組み換えられたADAR1 siRNAの存在下でルシフェラーゼアッセイを行った。ルシフェラーゼ活性の有意な低下は、ADAR1を標的とするsiRNAの存在下で実証され、内因性ADAR1の動員により、長アンチセンスadRNAとその環状変異体の送達によるRNA編集が行われたことを確認した(図9D、9E)。しかし、長アンチセンスドメインを有する環状adRNAを使用する一つの問題は、標的に隣接するアデノシンに見られるハイパー編集である(図14A)。これは、該標的をフラッキングするハイパー編集されたアデノシンでのミスマッチを使用することで対処された。

【0194】

結果の一般性を確認するために、HEK 293FT細胞のGAPDH、ALDOA及びDAXXの3つの転写物のコード配列(CDS)においてアデノシンを編集するために、アンチセンス長が200 bpの環状及び直鎖状adRNAを実行した(図10A)。環状adRNAは、GAPDH及びALDOA転写物の編集においてより良好であり、一方、DAXXについては、遺伝子導入の2日後に、直鎖状の構築物と環状の構築物との間の差異は観察されなかった。さらに、直鎖形態で細胞に送達されるが細胞内で環状化を受けるin vitro転写(IVT)環状adRNAのRNA編集を可能にする能力を試験した(図14B)。遺伝子導入の1日以内に、プラスミド送達を介して見られた25%と比較して、IVT adRNAを用いたRAB7A転写物のほぼ40%の編集が観察された(図10B)。細胞におけるIVT adRNA及びプラスミド送達adRNAの環状化も、qPCRを介して確認された(図10C)。

【0195】

マウスにおける内因性転写物を編集する際の直鎖状及び環状adRNAの効率を比較した。PCSK9転写物の3'UTR中のアデノシンを標的とするU6+27直鎖及び環状adRNAを、高い肝臓指向性を有することが知られているAAV8に一括した。陽性対照として、一括されたU6+27adRNA及びADAR2酵素を有する第3のAAVを使用した。注射の2週間後、マウス肝臓を採取し、U6+27 adRNAで見られる<1%、または過剰発現したADAR2の存在下でU6+27 adRNAを介して見られる2~3%と比較して、内因性ADARのリクルートを介したPCSK9転写物における標的部位の6~7%の編集が示された(図10A)。qPCRを実施して、環状adRNA及び他のAAV送達構築物の発現を確認した(図15B-D)。さらに、AAVで送達された直鎖状及び環状の長アンチセンスadRNAは、マウスの肝臓におけるPCSK9の発現レベルを著しく変化させなかった(図15E)。しかし、環状adRNAを使用すると、該標的の6 bp上流に位置するPCSK9転写物中の非標的アデノシンでの同様に高いレベルの編集が観察された(図15F)。該環状adRNAの発現を増加させることにより、RNA編集の効率を向上させることが可能であろうと仮定された。従って、両方ともCMVプロモーター駆動mCherryの下流にクローン化されたhU6及びmU6プロモーターを介して発現された環状adRNAの2つのコピーを有するAAVベクターを試験した。さらに、長アンチセンスRNAは、目的転写物に結合したままであり、それによって、編集されたmRNAの効率的な逆転写を防止したと考えられる。これを克服するために、cDNA合成の前に、センスRNAを用いて、長アンチセンスRNAを捕捉し、それによって、逆転写のために標的mRNAを遊離させた。このベクターを用いて、cDNA合成プロトコルにわずかな変更を加えると、注射の2週間後に、PCSK9遺伝子座の35~40%の編集が観察された(図11A)。また、使用した元のベクターより約3倍高い環状adRNAの強い発現が観察された(図11B及び15B)。

【0196】

本開示の組成物及び方法は、in vivoで内因性標的の35~40%を達成したため、該アプローチは、GからAへの点変異または中途停止コドンを効率的に修復するために使用され得る潜在的な遺伝子治療にドアを開く。環状adRNAの送達に対する自然免疫応答は、さらなる評価を必要とするが、AAVに基づく遺伝子治療は既に临床上で使用されている。該アプローチは、外因性タンパク質の送達を必要としないため、該アプローチは、莫大な治療的可能性を秘めている。

【0197】

実施例2 被験者は、疾患と診断されるであろう。該被験者は、医薬組成物の投与計画を処方されるであろう。該医薬組成物は、環状の人工ガイドRNAまたは環状の人工ガイドRNAをコードする組換えポリヌクレオチドを含むであろう。該環状の人工ガイドRNAは、ヌクレオチドの編集を行うRNA編集体をリクルートできる標的指向性ドメイン及びRNA編集体リクルートドメインを含むであろう。該医薬組成物は、前記被験者に注射によって投与されるであろう。該環状の人工ガイドRNAの投与計画は、比較可能な非環状の人工ガイドRNAの注射を受ける被験者よりも2倍少ない頻度であろう。該投与計画は、前記疾患を治療するのに有効な量を含むであろう。

【0198】

実施例3 環状の人工ガイドRNAは、人工ガイドRNAを得ることによって形成されるであろう。該人工ガイドRNAは、ヌクレオチドの編集を行うRNA編集体をリクルートできる標的指向性ドメイン及びRNA編集体リクルートドメインを含むであろうが、一方、他の構築物は、標的指向性ドメインを含むが、別個のRNA編集体リクルートドメインを含まないであろう。アプタマーは、前記人工ガイドRNAの各末端に添加されるであろう。リガーゼは、前記人工ガイドRNAの各末端で該アプタマーと接触され、該アプタマー間に共有連結を形成し、それによって、環状の人工ガイドRNAを形成するであろう。前記環状の人工ガイドRNAは、比較可能な非環状の人工ガイドRNAの二次構造と比較して、二次構造を実質的に保持するであろう。

【0199】

実施例4 被験者は、疾患と診断されるであろう。該被験者は、医薬組成物の投与計画を処方されるであろう。該医薬組成物は、環状の人工ガイドRNAまたは環状の人工ガイドRNAをコードする組換えポリヌクレオチドを含むであろう。該環状の人工ガイドRNAは、標的指向性ドメインを含むであろう。該医薬組成物は、注射によって、組換えRNA編集酵素を用いて被験者に同時投与されるであろう。該投与計画は、前記疾患を治療するのに有効な量を含むであろう。

【0200】

実施例5 本実施例では、ガイドの環状化が起こるかどうかを決定するために、1つ以上のリボザイムドメインをガイド設計上に添加した。ガイドは、293FTをリポフェクタミンで遺伝子導入し、ADAR酵素を過剰発現させるか、balancing plusmidを使用し、内因性ADARをリクルートするadRNAの能力を測定することにより、in vitroで試験した。プライマーは、環状化が起こったときにのみ増幅するように設計された。プライマーを用いた場合、環状化が起こった場合には増幅が起こる。図2を参照すると、ゲルは、Alu-v2-100-50ガイドの環状化を示す。

【0201】

実施例6 環状化は、より長いガイドを必要とする可能性があるので、種々のより長いガイドは、RAB7A及びCLuc遺伝子座の両方に対して試験されるであろう。これらのガイドは、標的A全体に配置するように設計されたC mismatchesと共に、長さが100、200、300、400、500、及び600 bpであろう。これらのガイドは、pCAGプロモーター下で、中途TAG停止コドンと共にルシフェラーゼ遺伝子を含有するCLucレポータープラスミドに対して試験されるであろう。ADARがTAG中の標的AをI(Gとして読み取られる)に変換するとき、リボソームは、図4に示されるように該タンパク質を完全に翻訳した。細胞は、遺伝子導入され、48時間後にルシフェラーゼレポーターアッセイで可視化されるであろう。該細胞からの光の読み取りは、ルシフェラーゼ活性の回復を示すであろう。図4を参照すると、第1のシナリオに示される例では、リボソームがルシフェラーゼ遺伝子中の中途TAG停止コドンに到達し、翻訳を停止させ、切断された非機能性ルシフェラーゼ酵素をもたらす。第2のシナリオでは、ADARは、TAG停止コドンをトリプトファンのTGGコドンに編集する部位にadRNAによってリクルートされ、正常なルシフェラーゼ発現をもたらすリボソームリードスルーを可能にするであろう。このようなシステムは、adRNAによる適切なADARリクルートの評価を可能にするであろう。ルシフェラー

10

20

30

40

50

ぜの発現が検出される場合、adRNAによるADARのリクルートは起こるであろう。ルシフェラーゼの発現が検出されない場合、ADARのリクルートは起こらないであろう。

【0202】

実施例7 治療的投与のための環状adRNAを用いることの利点：現在のpolIII転写物の半減期は、数分以下であり得るが、環状adRNAは、環状adRNAは非常に長寿命である可能性があり、化学合成されたオリゴとして送達可能であり、被験者への反復投与を必要としない可能性がある。治療的投与のための環状adRNAを使用するチャレンジは、以下を包含してもよい：環状RNAは、標的RNAにハイブリダイズできる可能性があり、核酸は互いに巻き付いている可能性があるため、形態上の制約により、環状adRNAを予め曲げる必要がある場合がある。図5に示すように、アプローチ(1)は、予め曲げられた環状adRNAを示す。図5に示すように、アプローチ(2)は、形態的により柔軟であり得る大きな環状adRNAを示す。図6及び図7のデータは、図5中のアプローチ(2)の構築物に対応している。これは、U6+27プロモーターv. U6を単独で使用してもよく、人工環状adRNAに対する足場として、Alu-adRNA及び長adRNAを使用してもよい。環状構築物の設計のために、U6+27プロモーターを使用してもよい。環状構築物の設計のために、Alu-adRNAまたは長adRNAを、環状adRNAを遺伝子操作するための足場として使用してもよい。

10

【0203】

実施例8 環状adRNAは、以下のようにRNA編集に影響を及ぼす可能性がある：100~600の範囲の様々な長さの環状adRNAを、キプリジナルシフェラーゼ (cluc W85X) レポーターで遺伝子導入された細胞でルシフェラーゼ活性を回復する能力について試験した（構築物の長さ、即ち600_300または500_250については図6のx軸を参照。最初の数字は環状adRNAの長さを示し、下線に続く数字はミスマッチの標的ヌクレオチドの位置を示す）。相対光単位は、y軸上に示され、より高い値は、ルシフェラーゼ活性の回復を示す。該実験は、adRNAの存在下で、または外因性酵素ADAR1-p110、ADAR1-p150、及びADAR2を添加して実施した。結果を図6に示す。

20

【0204】

実施例9 adRNAが細胞内で環状化されていることの確認は、図7に示されている。簡単に説明すると、RNAは、環状化ドメインに隣接する様々な長さ（即ち、図7の各レーンの上部に示されるように100_50、200_100、300_150）の直鎖のアンチセンスドメインを有するプラスミドで遺伝子導入された細胞から抽出された。該抽出されたRNAをcDNAに変換した後、環状化を確認するように設計されたプライマーを用いてPCRを行った；プライマーは、直鎖状のRNAが鋳型である場合、アンプリコンを生成しないであろう。GluR2 adRNAまたは環状化変異体をコードするプラスミドで遺伝子導入された細胞は、陰性対照として供された。結果を図7に示す。

30

【0205】

実施例10 長adRNA（例えば、0-100-50、0-200-100等）に加えて、Alu-adRNAを環状adRNA構築物の足場として使用してもよい。細胞を種々の環状adRNAをコードするプラスミドで遺伝子導入した。標的RNAが逆転写酵素によりcDNAに変換された後、サンガー配列決定法により、標的RNA(RAB7A)のRNA編集百分率を測定した。サンガートレースを分析して、編集効率を評価した。図8に示されたデータでは、長Alu-v2-100-50ガイドは、ADAR酵素が過剰発現されていない細胞において、編集の改善を示した。ADAR1p150の過剰発現により、Alu構築物の編集率が著しく高くなったが、直鎖状の100-50ガイドの編集率は同様であった。ADAR1p150は、短いアイソフォームであるADAR1p110に欠けている余分なds-RNA結合ドメインのために、Z-RNAに優先的に結合する可能性がある。それらの高いGC含量を有するAlu要素は、Z-DNA及びZ-RNAを形成でき、ADAR1p150のリクルートを助けることができる。

40

【0206】

本発明の好ましい実施態様をここに示し、説明してきたが、このような実施形態は例としてのみ提供されることは当業者には明らかであろう。当業者には、本発明から逸脱する

50

ことなく、多くの変形、改変、及び置換が行われるであろう。本明細書に記載された本発明の実施形態に対する種々の代替物を、本発明の実施に用いることができることを理解すべきである。以下の特許請求の範囲は、本発明の範囲を定義し、これらの特許請求の範囲内の方法及び構造、ならびにそれらの同等物は、それによって網羅されることが意図されている。

【図面】

【図 1 A】

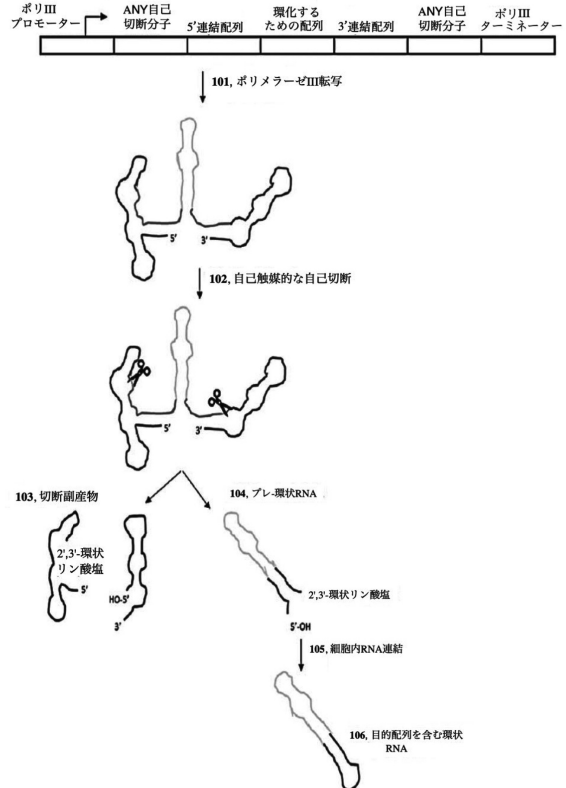
構築物設計



【図 1 B】

コードされた環状adRNAまたはapRNAの遺伝子操作

100, 構築物設計



10

20

30

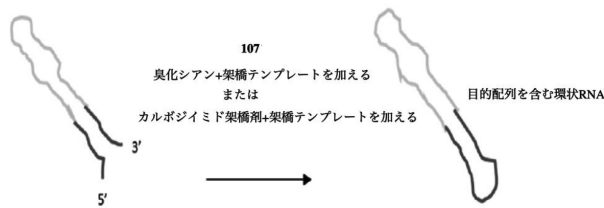
40

50

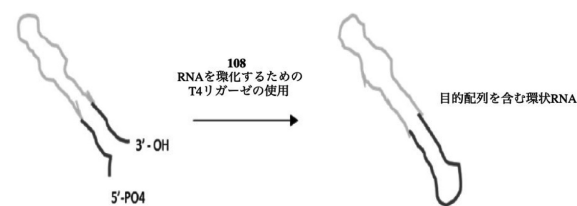
【図 1 C】

化学合成された環状adRNAまたはapRNAの遺伝子操作

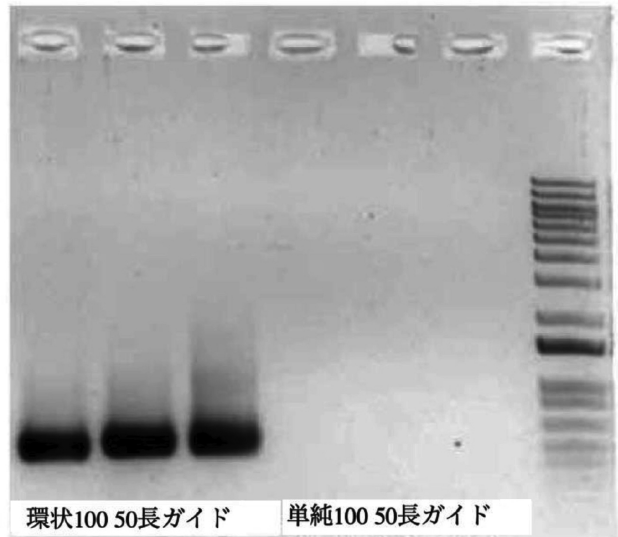
直鎖状のオリゴヌクレオチドの化学環化は、臭化シアンまたはカルボジイミド架橋剤1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドを架橋テンプレートと共に使用することで達成できる。



現状DNAまたはRNAオリゴヌクレオチドの酵素の合成は、T4リガーゼによって実施することができる。これらの酵素は、反応性3'-OH基及び5'-PO₄基を環化することができる。



【図 2】



上：Alu 100_50ガイドの環化を示すゲル

10

20

【図 3 A】

Alu-v2が環化された構築物の配列:

P3リボザイム

Alu要素

アンチセンスガイド

標的CミスマッチI

P1リボザイム

配列番号1418

環化されたAlu 60-30 R7Aガイド：

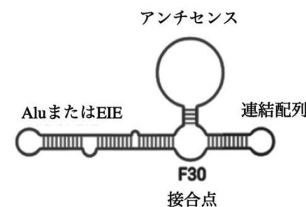
CTTGTGGAAAGAGCGAAACACGCCCTACGTCCGCGCTCCAAAGCCGGGATAAAGATGGGAGGGGGGGGGGA
AATCCCTCTAACCCTACCGCTGACTGATGGCAGAAAATAAAGAGCGGGGCGGCTGGCTCAGCCGTGTAACTC
CAGCATCTTTGGGAGGCGGAGGCGGGGATAGTCTTGAGGCCACAGGATCTGAGACAGAGCTGGGCAACATA
CGAGACGCCCTCTCTTCTTGTTGCTACTGTACAGAAATATGCGCCAGCTGGATTTCCCAATTTCTTGAGTA
ACACGCCGCGGGGCTGTGGGCGCGCGCTGTATGCTCCAGCTCTCGGGAGGCTGAGGACAGAGGATGTCGTT
GAGCCCGAGGATCTCGAGGCTGAGTGAAGTACTGATCGGCCCACTGACCTACCGACTCTGGGCGACGAGCGA
GACCTCTCTCTCAAAAATAAAGCTGCATCACTGCGCGTGGACTGTAGAACATGCCAATGCCGGTCCCAA
CGCCGGATAAAGTGGAGGCTACGTGCACAGC

配列番号1419

環化されたAlu 100-50 R7Aガイド:

CTTGTGGAAAGGACGAACACCGCCACTAGTCGCCGCTCCAAAGCCGGATAAAATGGAGGGGGGGGGA
AACCGCTTAACCTCCGCACTGTATGGCAGAAAAGAAAGCCGGCGCGTGGCTCACCGCTGTAATC
CAGCACTTTGGGAGGCGAGGCGGGGAGCTCTGTGAAGCCAGGATTCGAGACAGCGCTGGGACAATCG
CGGACAGCCCGCTCTGTGAAGAAAGGCGCTACATAATTTGTGTCTACTGTACAGATACTGCCGACAGT
GGATTTCCCAATTCGTAGTAACACTTGCATCAACACAGGGTTCAGCCGGCGGTGGTGGCGCGCCTGT
TAGTCCCACTCTCGGAGAGCTGTAGGACAGAGATCGCTTGAGCCAGGATCTCAGAGTGCATGGAGC
TATGATCGGCCCACTGCACTCAGCGCTGGGCGACAGAGCGAGCTGGCTCAAAAAGGATCACTGCATCT
AGTCGGCGTGGACTGTAGAACACTGCCAATGCCGGTCCAAAGCCGGATAAAAGTGGAGGGTACAGTCCA
CGC

【図 3 B】



使用したAlu要素の配列（配列番号1420）：

[illegible]

GABRA3 EIEの配列（配列番号1421）：

gaagcaaggaaggctgagaagcacttctgagagatctgtattgggaccagaagtgagtagcctgtagccc
gcaggaactcagcagggtatgttctattcactggggtcatcaatacaattctcaactggagtgcctcttgg
aatctggcctaactagtcac

GluA2 EIEの配列（配列番号1422）：

ggttggtcactcacctgctcaactttgtgcaatttaggtctcaagtggaattcatggtgctatgaattca
ctataaagatgtcagcagctgccgaccattgtccaagcaaatttaagatgcttagaaggcaaatctctaccg
tcggcgtaaagctgtgaataacctgaacaattgtcttgaaatgtgatcatgtgttctccctggtgaaatcata
tcaccatggagaggtcataaaatcgcaagaagttctcatcatctcatcgtctgc

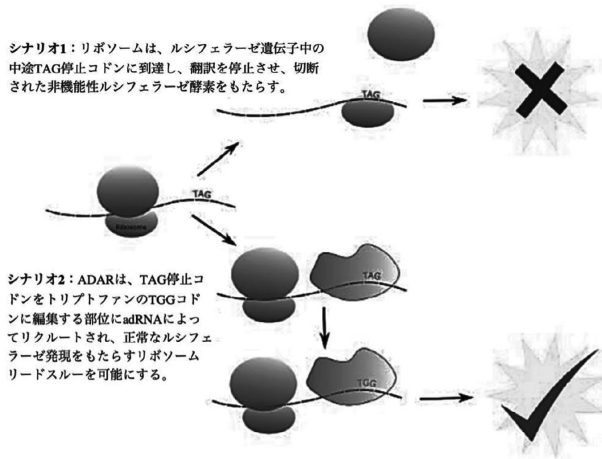
Cyfp2 EIEの配列（配列番号1423）：

gatgcaggtagattccacagtgccaggaggggaatggcttgagtgctctgagcccttggcatcagccctta
gctaccaggctctaaagggctcagagcacagccacacccctgtcctgctctgaggtagactccccctcc

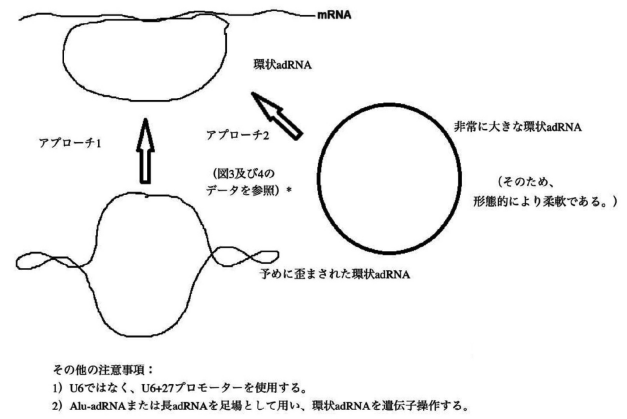
30

40

【図 4】

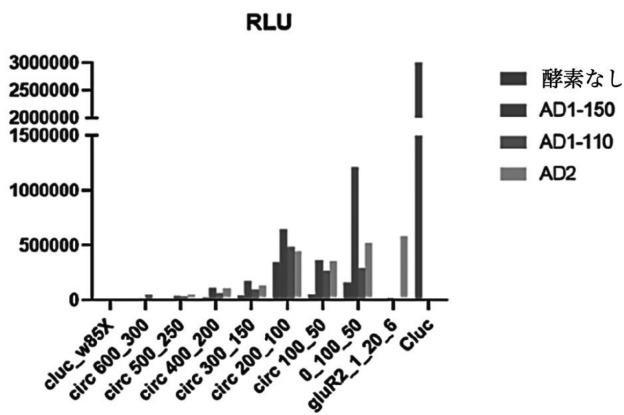


【図 5】

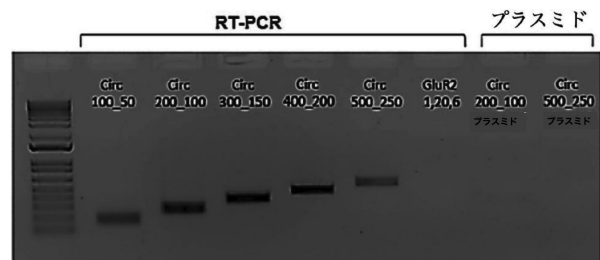


10

【図 6】



【図 7】



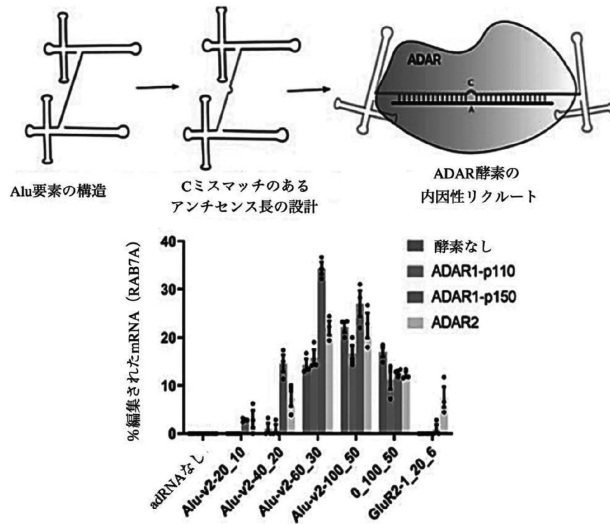
20

30

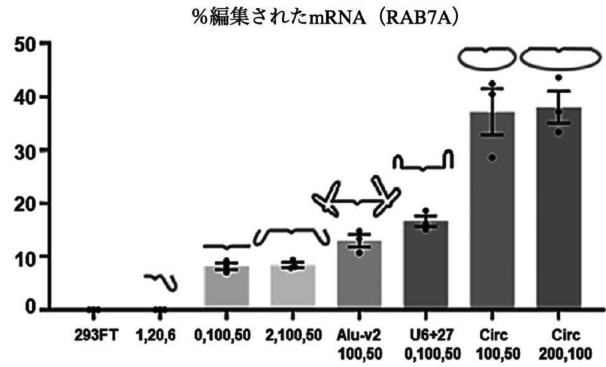
40

50

【図 8】

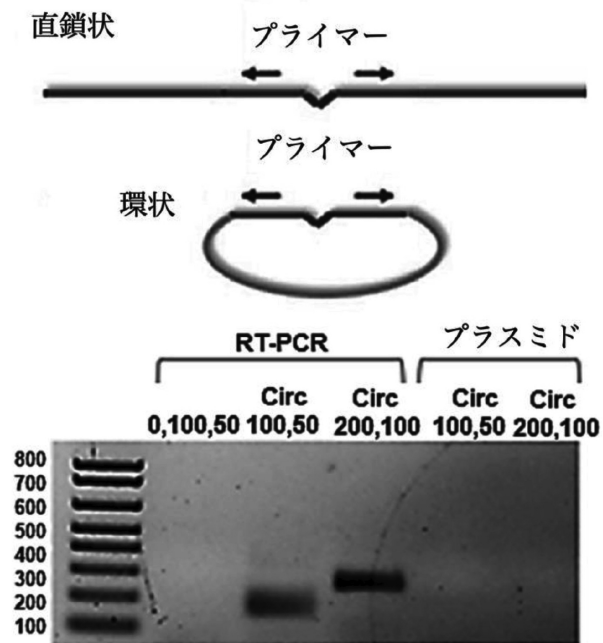


【図 9 A】

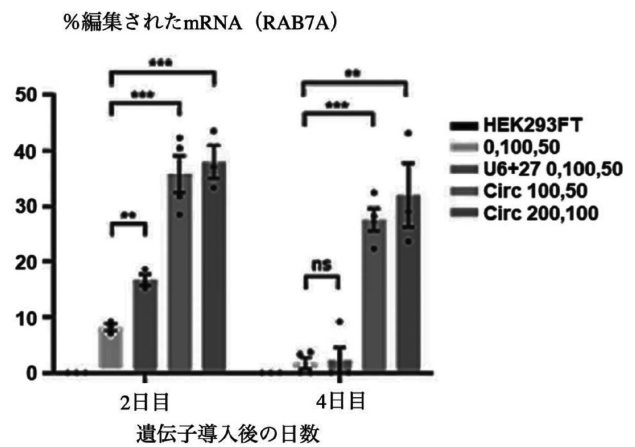


10

【図 9 B】



【図 9 C】



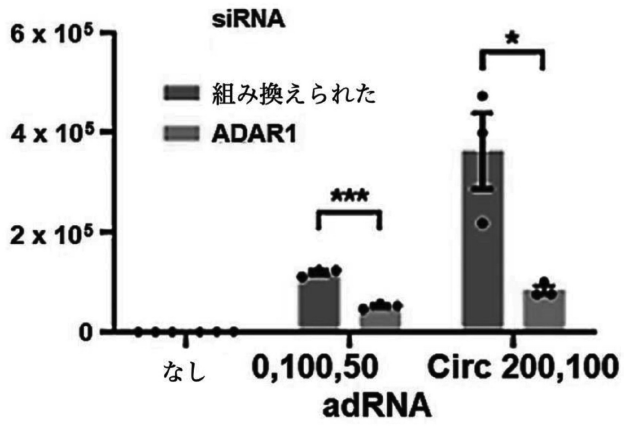
20

30

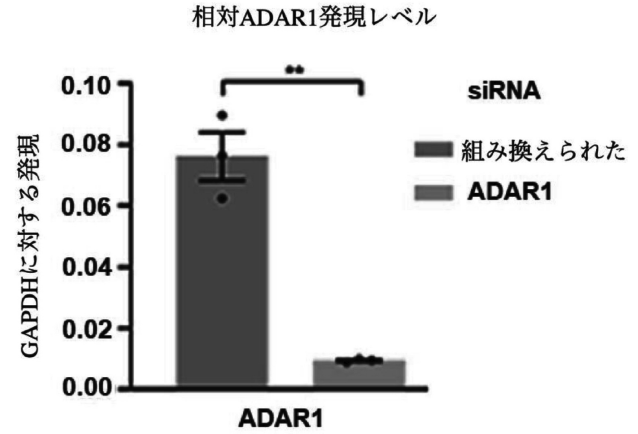
40

50

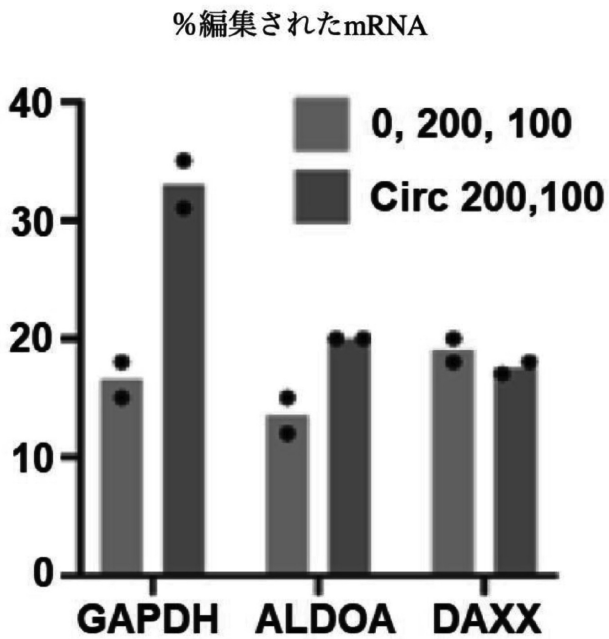
【図 9 D】



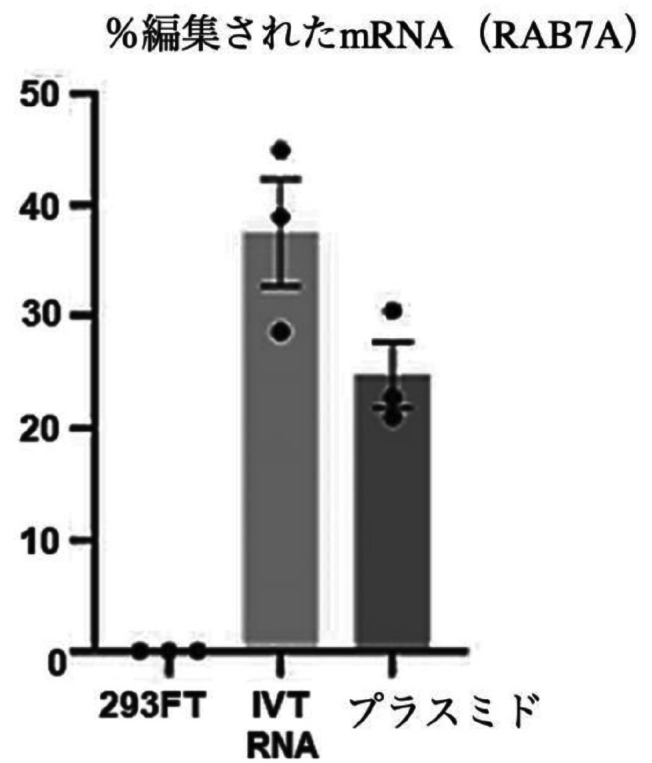
【図 9 E】



【図 10 A】



【図 10 B】



10

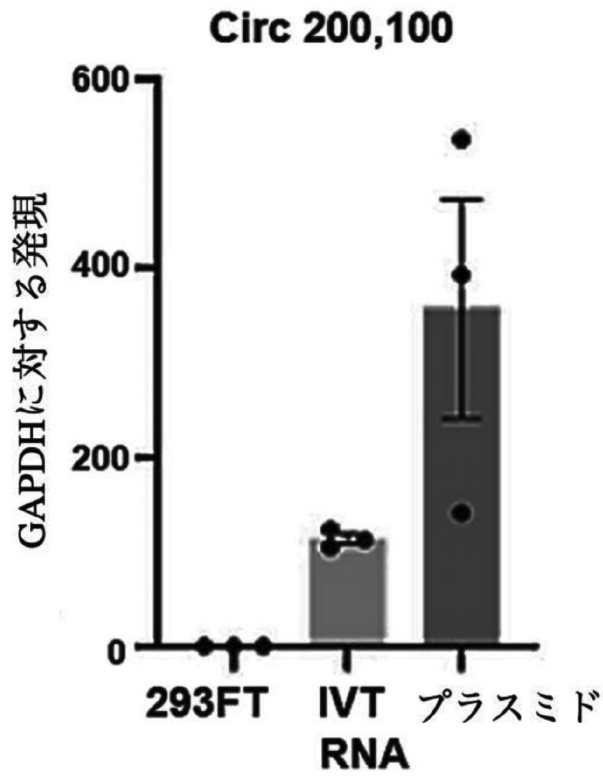
20

30

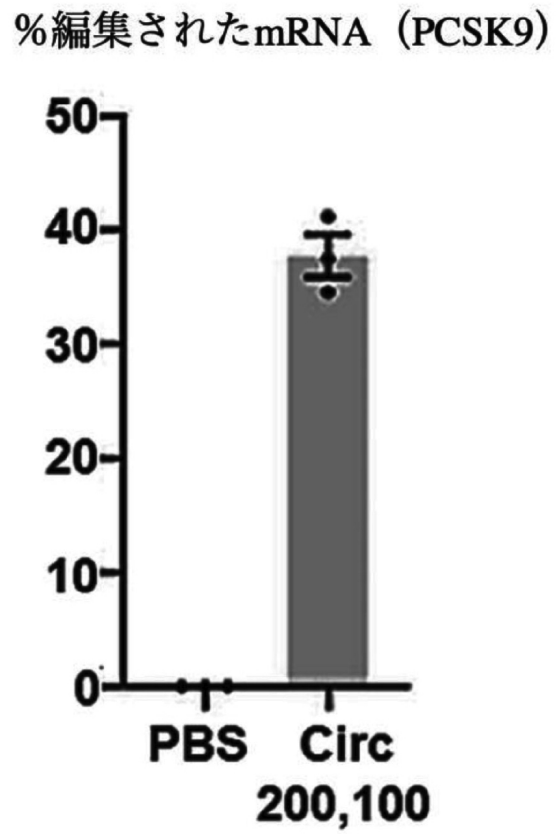
40

50

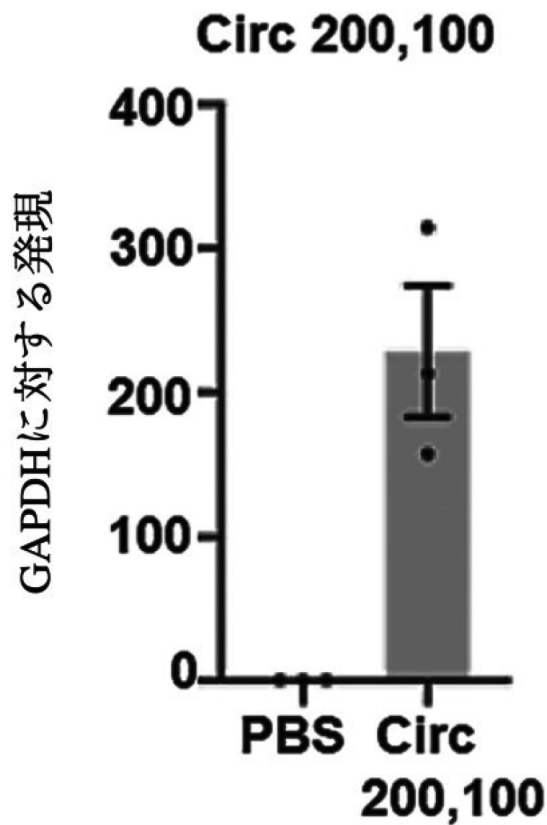
【図 1 0 C】



【図 1 1 A】



【図 1 1 B】



【図 1 2 A】



10

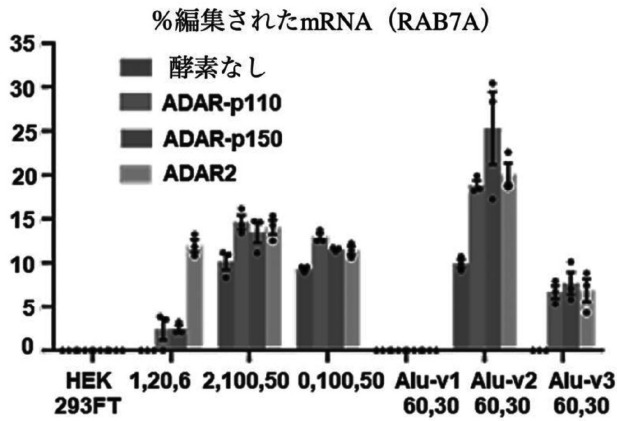
20

30

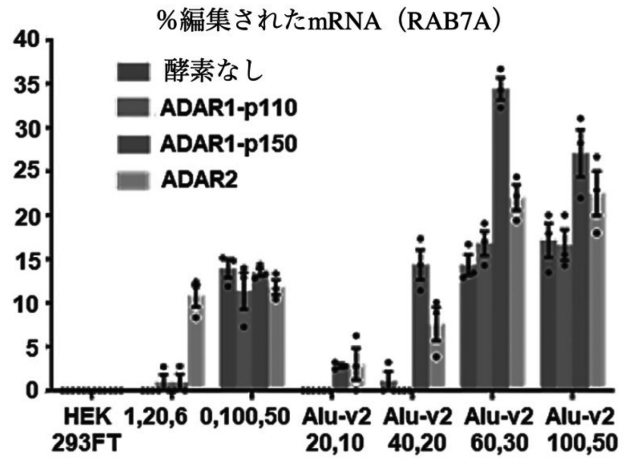
40

50

【図 1 2 B】

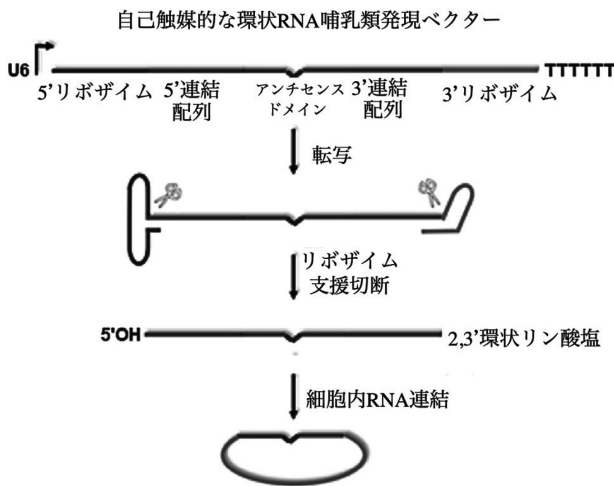


【図 1 2 C】

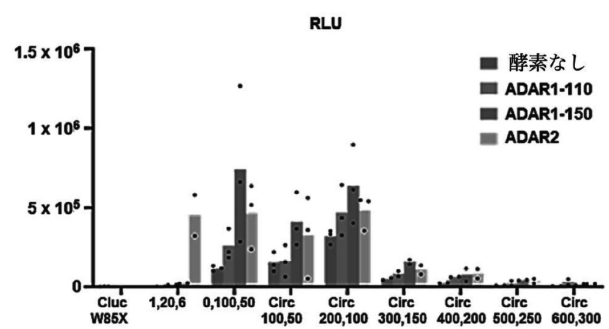


10

【図 1 3 A】



【図 1 3 B】



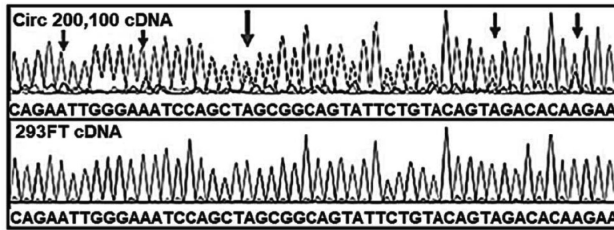
20

30

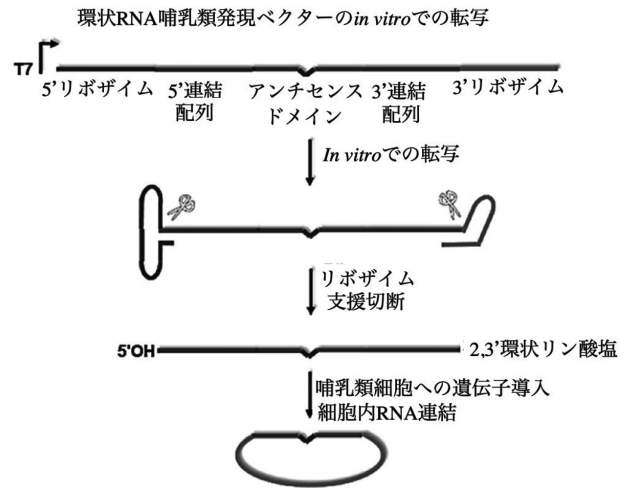
40

50

【図 1 4 A】

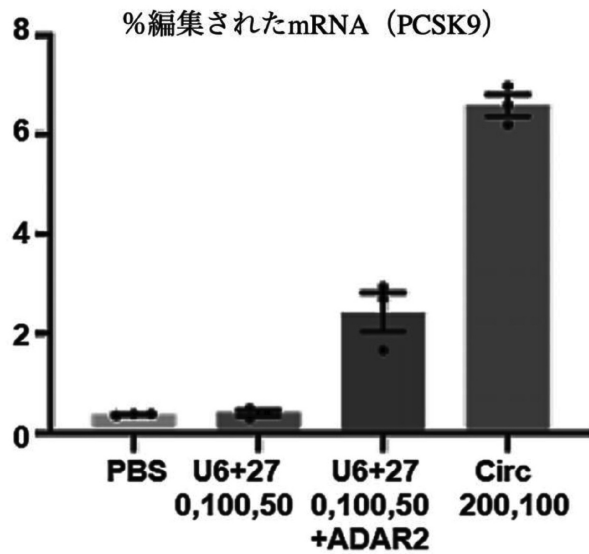


【図 1 4 B】

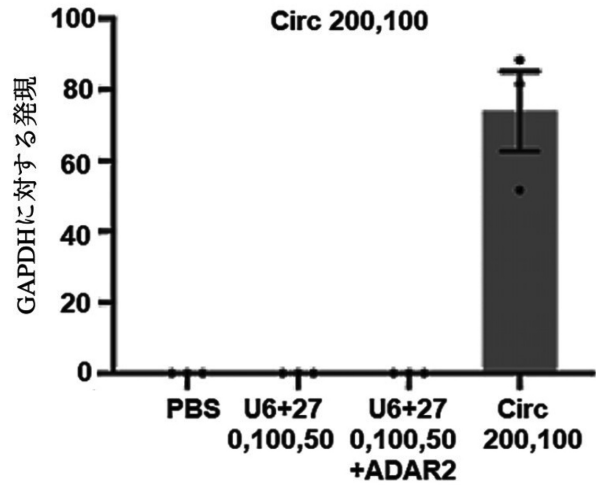


10

【図 1 5 A】



【図 1 5 B】



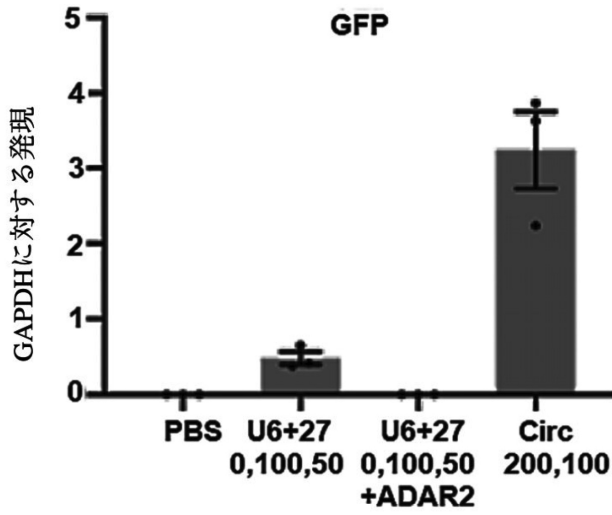
20

30

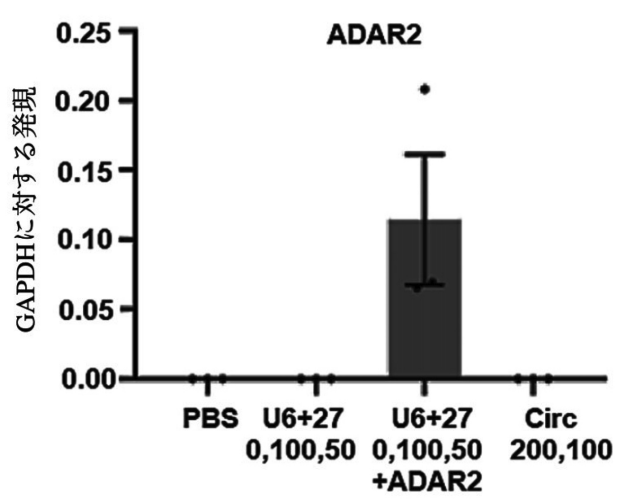
40

50

【図 1 5 C】

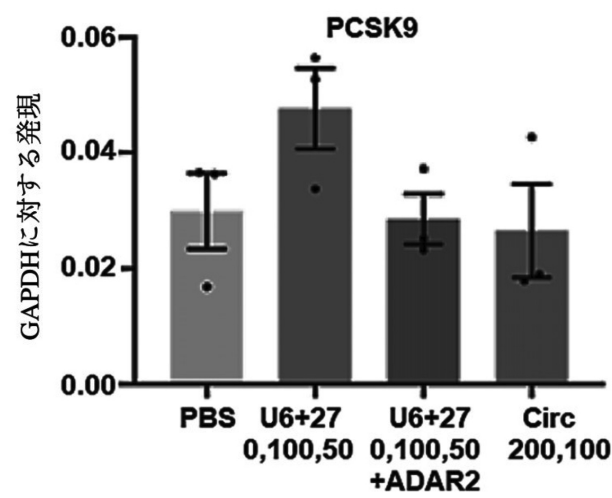


【図 1 5 D】

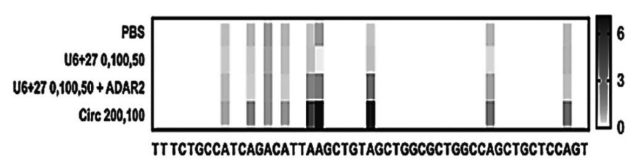


10

【図 1 5 E】



【図 1 5 F】



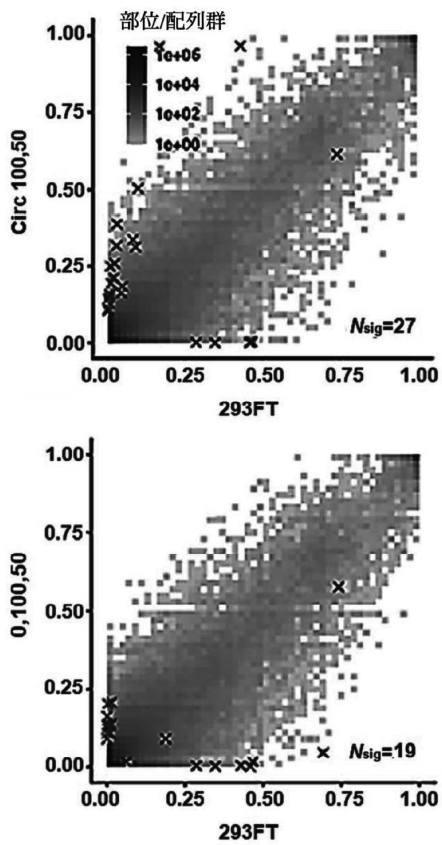
20

30

40

50

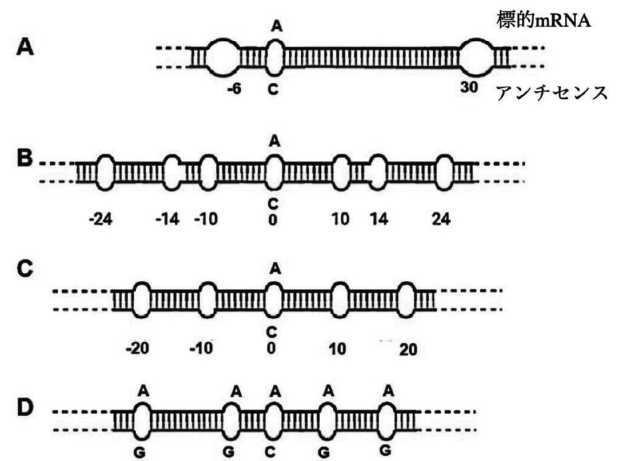
【図 16】



【配列表】

2 0 2 3 5 0 4 0 4 8 0 0 0 0 1 . a p p

【図 17】



10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2020/062748
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C12N 5/10; C12N 9/22; C12N 9/78; C12N 9/80; C12N 15/10; C12N 15/82 (2021.01) CPC - C07K 2319/00; C12N 9/22; C12N 9/78; C12N 15/10; C12N 15/102; C12N 15/8213 (2021.02)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) see Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched see Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) see Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	WO 2019/005884 A1 (THE BROAD INSTITUTE, INC. et al) 03 January 2019 (03.01.2019) entire document	34-37, 155-157 1-8, 38, 56-58, 102-106, 119-121, 133-135
X — Y	WO 2018/237372 A1 (CORNELL UNIVERSITY) 27 December 2018 (27.12.2018) entire document	113, 116 102-106, 119-121, 133-135
Y	WEGNER et al. "Circular synthesized CRISPR/Cas gRNAs for functional interrogations in the coding and noncoding genome," eLife, 06 March 2019 (06.03.2019), Vol. 8, e42549, Pgs. 1-31. entire document	1-8, 56-58
Y	US 2019/0040405 A1 (E. I. DU PONT DE NEMOURS AND COMPANY et al) 07 February 2019 (07.02.2019) entire document	4, 38, 105
P, X	WO 2020/051555 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 12 March 2020 (12.03.2020) entire document	1-8, 34-38, 56-58, 102-110, 113-121, 133-135, 155-157
A	WO 2019/113499 A1 (THE BROAD INSTITUTE, INC. et al) 13 June 2019 (13.06.2019) entire document	1-8, 34-38, 56-58, 102-110, 113-121, 133-135, 155-157
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 February 2021		Date of mailing of the international search report MAR 15 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Blaine R. Copenheaver Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2020/062748

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KATREKAR et al. "In vivo RNA editing of point mutations via RNA-guided adenosine deaminases," Nature Methods, 08 February 2019 (08.02.2019), Vol. 16, Iss. 3, Pgs. 239-242. entire document	1-8, 34-38, 56-58, 102-110, 113-121, 133-135, 155-157

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2020/062748
Box No. I	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)	
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed: ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file. ☐ on paper or in the form of an image file. b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file. c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only: ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)). ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713). 2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished. 3. Additional comments: SEQ ID NOs: 1-38, 1418, and 1419 were searched. 10 20 30 40		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	International application No. PCT/US2020/062748
Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)	
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:	
1. ☐	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐	Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒	Claims Nos.: 9-33, 39-55, 59-101, 111, 112, 122-132, 136-154, 158 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:	
1. ☐	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐	As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Remark on Protest	☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation. ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	3/00	(2006.01)	A 6 1 P	3/00	
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	21/04	(2006.01)	A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	25/04	(2006.01)	A 6 1 P	25/04	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	31/7105	(2006.01)	A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	35/76	(2015.01)	A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	48/00	(2006.01)	A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	31/713	(2006.01)	A 6 1 K	31/713	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	

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

1 0、ギルマン ドライブ 9 5 0 0 カリフォルニア大学サンディエゴ校内

(72)発明者

カトレカール、ドルバ

アメリカ合衆国 9 2 0 9 3 カリフォルニア州、ラホーヤ、メールコード：0 9 1 0、ギルマン
ドライブ 9 5 0 0 カリフォルニア大学サンディエゴ校内

F ターム (参考)

4B065 AA90X AA90Y AA95Y AB01 AC14 AC20 BA02 CA44
4C084 AA13 AA19 MA02 MA17 MA28 MA52 MA55 MA56 MA58 MA59
MA60 MA63 MA66 NA05 NA14 ZA011 ZA012 ZA021 ZA022 ZA081 ZA082
ZA161 ZA162 ZA331 ZA332 ZA361 ZA362 ZA941 ZA942 ZC211 ZC212 ZC751
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA02 MA04 MA17 MA28 MA52 MA55
MA56 MA58 MA59 MA60 MA63 MA66 NA05 NA14 ZA01 ZA02 ZA08
ZA16 ZA33 ZA36 ZA94 ZC21 ZC75
4C087 AA01 AA02 CA12 MA02 MA17 MA28 MA52 MA55 MA56 MA58
MA59 MA60 MA63 MA66 NA05 NA14 ZA01 ZA02 ZA08 ZA16 ZA33
ZA36 ZA94 ZC21 ZC75