(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0049306
(43) 공개일자 2024년04월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 9/22 (2006.01) *C12N 15/10* (2017.01)
C12N 15/113 (2010.01) *C12N 15/90* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 9/22 (2013.01)
C12N 15/102 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7008513
(22) 출원일자(국제) 2022년08월29일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년03월13일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/041755
(87) 국제공개번호 WO 2023/028348
국제공개일자 2023년03월02일
(30) 우선권주장
63/237,791 2021년08월27일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
메타지노미, 인크.
미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 파크 애비뉴 1545
(72) 발명자
토마스 브라이언 씨
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
브라운 크리스토퍼
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희, 김태홍

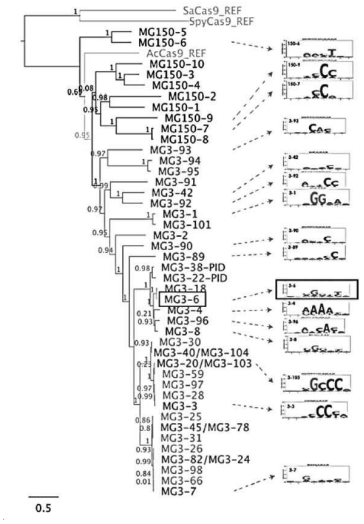
전체 청구항 수 : 총 184 항

(54) 발명의 명칭 **RUVC 도메인을 갖는 효소**

(57) 요 약

본 개시내용은 구별되는 도메인 특징부를 갖는 엔도뉴클레아제 효소뿐만 아니라, 이러한 효소 또는 이의 변이체를 사용하는 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도24



(52) CPC특허분류
C12N 15/113 (2013.01)
C12N 15/907 (2013.01)
C12N 2310/20 (2017.05)
C12N 2310/315 (2013.01)
(72) 발명자
칸터 로즈
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
드보토 아우드라
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
버터필드 크리스티나
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
알렉산더 리사
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
골츠만 다니엘라 에스에이
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
리우 제이슨
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
라모스 레베카
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
에스피노사 디에고
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
스톨리 메간
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545
코스트 그레그
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 파크 애비뉴 1545

(30) 우선권주장
63/245,629 2021년09월17일 미국(US)
63/252,956 2021년10월06일 미국(US)
63/282,909 2021년11월24일 미국(US)
63/316,895 2022년03월04일 미국(US)
63/319,681 2022년03월14일 미국(US)
63/322,944 2022년03월23일 미국(US)
63/369,858 2022년07월29일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

세포에서 베타-2-마이크로글로불린(B2M) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 B2M 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 B2M 유전자좌의 영역은 서열번호 6387-6468 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6305-6386 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 B2M 유전자좌의 영역이 서열번호 6388, 6399, 6401, 6403, 6410, 6413, 6421, 6446, 및 6448 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 7

세포에서 T 세포 수용체 알파 불변(TRAC) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRAC 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 TRAC 유전자좌의 영역은 서열번호 6509-6548 또는 6805 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 11

제7항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6469-6508 또는 6804 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 TRAC 유전자좌의 영역은 서열번호 6517, 6520, 및 6523 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 13

세포에서 히포잔틴 포스포리보실전이효소 1(HPRT) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 HPRT 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 HPRT 유전자좌의 영역은 서열번호 6616-6682 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드에 대해 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 17

제13항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6549-6615 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 18

제13항에 있어서, 상기 HPRT 유전자좌의 영역은 서열번호 6619, 6634, 6673, 6675, 및 6679 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 19

세포에서 T 세포 수용체 베타 불변 1 또는 T 세포 수용체 베타 불변 2 (TRBC1/2) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRBC1/2 유전자좌의 영역에 혼

성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 TRBC1/2 유전자좌의 영역은 서열번호 6722-6760 또는 6782-6802 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 21

제19항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 23

제19항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6683-6721 및 6761-6781 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 24

제19항에 있어서, 상기 TRBC1/2 유전자좌의 영역은 서열번호 6734, 6753, 6790, 및 6800 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 25

세포에서 히드록시산 옥시다제 1(HAO1) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 HAO1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 HAO1 유전자좌의 영역이 서열번호 11802-11820 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 27

제25항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 29

제25항에 있어서, 상기 HAO1 유전자좌의 영역은 서열번호 11806, 11813, 11816, 및 11819 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 30

조작된 뉴클레아제 시스템으로서:

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는

(i) 2'-O-메틸 뉴클레오티드;

(ii) 2'-플루오로 뉴클레오티드; 또는

(iii) 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

여기서 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-431 중 어느 하나, 또는 이의 변이체에 대해 적어도 75% 서열 동일성을 갖는, 시스템.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 시스템.

청구항 32

조작된 뉴클레아제 시스템으로서:

(a) 서열번호 421-431 중 어느 하나, 또는 이의 변이체에 대해 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제;

(b) 조작된 가이드 RNA를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 표적 핵산 서열에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하며,

여기서 상기 시스템은 Cas9 효소를 포함하는 동등한 시스템과 비교하여 인간 대상체에게 투여될 때 감소된 면역원성을 갖는, 시스템.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 Cas9 효소는 SpCas9 효소인, 시스템.

청구항 34

제32항 또는 제33항에 있어서, 상기 면역원성은 항체 면역원성인, 시스템.

청구항 35

제32항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466-5467 및 11160-11162 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 시스템.

청구항 36

제32항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 뉴클레아제가 서열번호 421 또는 423 중 어느 하나 또는 이의 변이체와 적어도 약 75% 서열 동일성 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는, 시스템.

청구항 37

세포에서 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제 또는 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제를 암호화하는 핵산; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고;

여기서 상기 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 조혈 줄기 세포(HSC), 또는 유도 만능 줄기 세포(iPSC)인, 방

법.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 39

제37항 또는 제38항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 40

제37항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 41

제37항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421 또는 이의 변이체와 적어도 약 75% 서열 동일성 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는, 방법.

청구항 42

제37항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6804, 6806, 및 6808 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성인 서열을 포함하는, 방법.

청구항 43

제37항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제를 암호화하는 상기 핵산이 서열번호 6803 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 포함하는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 44

제37항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유전자좌의 영역이 서열번호 6805, 6807, 및 6809 중 어느 하나의 적어도 18개 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 45

세포에서 CD2 분자(CD2) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은:

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 CD2 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6853-6894 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6811-6852 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도

약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 47

제45항 또는 제46항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242 또는 서열번호 2244, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 48

제45항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 49

제45항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 약 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 50

제45항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 51

제45항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6813, 6841, 6843-6847, 6852, 또는 6852 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 6A에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 53

제45항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6855, 6883, 6885-6889, 6892, 또는 6984 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 54

서열번호 6811-6852 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 55

제54항에 있어서, 표 6A에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함

하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 56

세포에서 CD5 분자(CD5) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 CD5 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6959-7022 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466 또는 6895-6958 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 57

제56항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 58

제56항 또는 제57항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242 또는 서열번호 2244, 또는 이의 변이체와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 59

제56항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 60

제56항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421-431 중 어느 하나 또는 이의 변이체와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

청구항 61

제56항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421과 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성인 서열을 포함하는, 방법.

청구항 62

제56항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 63

제56항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6897, 6904, 6906, 6911, 6928, 6930, 6932, 6934, 6938, 6945, 6950, 6952, 및 6958 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도

약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 7A에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 65

제56항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6961, 6968, 6970, 6975, 6992, 6994, 6996, 6998, 7002, 7009, 7014, 7016, 및 7022 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열이거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 66

서열번호 6895-6958 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 67

제66항에 있어서, 표 7A에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 68

세포에서 RNA 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) 서열번호 2242 또는 서열번호 2244, 또는 이의 변이체와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 RNA 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 RNA 유전자좌는 박테리아 또는 미생물 RNA를 포함하지 않는, 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 가이드 RNA가 서열번호 5466 또는 서열번호 5539의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 70

세포에서 Fas 세포 표면 사멸 수용체(FAS) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은:

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 인간 FAS 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7057-7090 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7023-7056 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%,

적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 72

제70항 또는 제71항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 73

제70항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 74

제70항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 75

제70항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 7059, 7061, 7069, 7070, 7076, 7080, 7083, 7084, 7085, 또는 7088 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 76

제70항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 77

제70항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 RNA는 서열번호 7025, 7027, 7035, 7036, 7042, 7046, 7049-7051, 또는 7054 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 78

제77항에 있어서, 상기 가이드 RNA는 표 8에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 79

서열번호 7023-7056 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 80

제79항에 있어서, 표 8에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 81

세포에서 세포 예정사 1(PD-1) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 인간 PD-1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7129-7166 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7091-7128 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 82

제81항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 83

제81항 또는 제82항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 84

제81항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 85

제81항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 86

제81항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 7135, 7137, 7146, 7149, 7152, 7156, 7160, 7161, 7164, 7165, 또는 7166 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 87

제81항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 88

제81항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 RNA가 서열번호 7097, 7099, 7108, 7111, 7114, 7118, 7122, 7123, 7126, 7127, 또는 7128 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 89

제88항에 있어서, 상기 가이드 RNA는 표 9에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 90

서열번호 7091-7128 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도

약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 91

제79항에 있어서, 표 9에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 92

세포에서 인간 Rosa26(hRosa26) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 hRosa26 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7199-7230 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7167-7198 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 93

제92항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 94

제92항 또는 제93항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 95

제92항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 96

제92항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 97

제92항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 7205-7206, 7215, 7220, 7223, 또는 7225 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 98

제92항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 99

제92항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 RNA가 서열번호 7173, 7174, 7183, 7188, 7191, 또

는 7193 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 100

제99항에 있어서, 상기 가이드 RNA는 표 10에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 101

서열번호 7167-7198 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 102

제101항에 있어서, 표 10에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 103

세포에서 T 세포 수용체 알파 불변(TRAC) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

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

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7235-7238, 7248-7256, 7270, 또는 7278-7284 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7231-7234, 7239-7247, 7269, 또는 7271-7277 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 104

제103항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 105

제103항 내지 제104항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 1512, 1756, 11711-11713, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 106

제103항 내지 제105항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 5473, 5475, 11145, 11714, 또는 11715의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 107

제103항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 7235-7238, 7248-7256, 7270, 또는 7278-7284 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 108

제103항 내지 제107항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 RNA가 서열번호 7231-7234, 7239-7244, 7269, 또는 7271-7277 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 109

제108항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 11에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 110

서열번호 7231-7234, 7239-7247, 7269, 또는 7271-7277 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 111

제110항에 있어서, 표 11에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 112

세포에서 아데노-연관 바이러스 통합 부위 1(AAVS1) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 AAVS1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7261-7264 또는 7267-7268 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7257-7260 또는 7265-7266 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 113

제112항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 114

제112항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 1756 또는 11711, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 115

제112항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 5475 또는 11715의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 116

제112항 내지 제115항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 7261-7263 또는 7267-7268

중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 117

제112항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 RNA가 서열번호 7257-7260 또는 7265-7266 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 118

제117항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 12에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 119

서열번호 7257-7260 또는 7265-7266 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 120

제119항에 있어서, 표 12에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 121

세포에서 히드록시산 옥시다제 1(HAO-1) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

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

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11773-11793 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 122

제121항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 123

제121항 또는 제122항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 124

제121항 내지 제123항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 125

제121항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 126

제121항 내지 제125항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 11773, 11780, 11786, 또는 11787 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 127

제121항 내지 제126항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 128

서열번호 11773-11793 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스페이서 서열 및

서열번호 5466과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스캐폴드 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 129

세포에서 인간 G 단백질-결합 수용체 146(GPR146) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 GPR146 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11406-11437 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11374-11405 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 130

제129항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 131

제129항 또는 제130항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 132

제129항 내지 제131항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 133

제129항 내지 제132항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 134

제129항 내지 제133항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 11425의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 135

제129항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 136

제129항 내지 제135항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 RNA가 서열번호 11393와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 137

제129항 내지 제136항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 15에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 138

서열번호 11374-11405 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스페이서 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 139

제138항에 있어서, 표 15에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 140

세포에서 마우스 G 단백질-결합 수용체 146(GPR146) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 GPR146 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11473-11507 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11438-11472 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 141

제140항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 142

제140항 또는 제141항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 143

제140항 내지 제142항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 144

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 145

제140항 내지 제144항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 11482, 11488, 또는 11490 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 146

제140항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 147

제140항 내지 제146항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 RNA가 서열번호 11447, 11453, 또는 11455와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 148

제140항 내지 제147항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 16에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 149

서열번호 11438-11472 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스페이서 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 150

제149항에 있어서, 표 16에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 151

세포에서 T 세포 수용체 알파 불변(TRAC) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

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

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11516-11517 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11514-11515 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 152

제151항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 153

제151항 내지 제152항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 11153의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 154

제151항 내지 제153항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 11516 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 155

제151항 내지 제154항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 11716, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 156

제151항 내지 제155항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 RNA가 서열번호 11514와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 157

제156항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 17에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 158

서열번호 11514-11515 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스페이서 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 159

제158항에 있어서, 표 17에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 160

세포에서 아데노-연관 바이러스 통합 부위 1(AAVS1) 유전자좌를 파괴하는 방법으로서, 상기 방법은

(a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 도입하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 AAVS1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11511-11513 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나;

상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11508-11510 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도

약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 방법.

청구항 161

제160항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

청구항 162

제160항 내지 제161항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 11717의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 163

제160항 내지 제162항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 11511의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되는, 방법.

청구항 164

제160항 내지 제163항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 914, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

청구항 165

제160항 내지 제164항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 RNA가 서열번호 11508와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

청구항 166

제165항에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA는 표 17에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 167

서열번호 11508-11510 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스페이서 서열을 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 168

제167항에 있어서, 표 17에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함하는, 단리된 RNA 분자.

청구항 169

조작된 뉴클레아제 시스템으로서:

(a) 본원에 기술된 Cas 효과기 단백질 서열 중 어느 하나의 PI 도메인, 또는 이의 변이체와 적어도 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제; 및

(b) 조작된 가이드 RNA를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 표적 핵산 서열에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하며,

여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 본원에 기술된 sgRNA 서열 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을

포함하는, 시스템.

청구항 170

제169항에 있어서, 본원에 기술된 Cas 효과기 뉴클레아제 중 어느 하나의 RuvCIII 도메인 또는 HNH 도메인과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 RuvCIII 도메인 또는 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 시스템.

청구항 171

제169항 또는 제170항에 있어서, 상기 엔도뉴클레아제가 본원에 기술된 PAM 서열 중 어느 하나에 대해 선택성을 갖도록 구성되는, 시스템.

청구항 172

제169항 내지 제171항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 엔도뉴클레아제가 본원에 기술된 Cas 효과기 서열 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 추가로 포함하는, 시스템.

청구항 173

세포에서 B2M 유전자좌를 파괴하기 위한 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 방법의, 용도.

청구항 174

세포에서 TRAC 유전자좌를 파괴하기 위한 제7항 내지 제12항, 제103항 내지 제109항, 또는 제151항 내지 제157항 중 어느 한 항의 방법 또는 제110항 내지 제111항 또는 제158항 내지 제159항 중 어느 한 항의 RNA의, 용도.

청구항 175

세포에서 HPRT 유전자좌를 파괴하기 위한 제13항 내지 제18항 중 어느 한 항의 방법의, 용도.

청구항 176

세포에서 TRBC1/2 유전자좌를 파괴하기 위한 제19항 내지 제24항 중 어느 한 항의 방법의, 용도.

청구항 177

세포에서 HAO-1 유전자좌를 파괴하기 위한 제25항 내지 제29항 또는 제121항 내지 제127항 중 어느 한 항의 방법 또는 제128항 내지 제129항 중 어느 한 항의 RNA의, 용도.

청구항 178

세포에서 CD2 유전자좌를 파괴하기 위한 제45항 내지 제53항 중 어느 한 항의 방법 또는 제54항 내지 제55항 중 어느 한 항의 RNA의, 용도.

청구항 179

세포에서 CD5 유전자좌를 파괴하기 위한 제56항 내지 제65항 중 어느 한 항의 방법 또는 제66항 내지 제67항 중 어느 한 항의 RNA의, 용도.

청구항 180

세포에서 FAS 유전자좌를 파괴하기 위한 제70항 내지 제78항 중 어느 한 항의 방법 또는 제79항 내지 제80항 중 어느 한 항의 RNA의, 용도.

청구항 181

세포에서 PD-1 유전자좌를 파괴하기 위한 제81항 내지 제89항 중 어느 한 항의 방법 또는 제90항 내지 제91항

중 어느 한 항의 RNA의, 용도.

청구항 182

세포에서 hRosa26 유전자좌를 파괴하기 위한 제92항 내지 제100항 중 어느 한 항의 방법 또는 제101항 내지 제102항 중 어느 한 항의 RNA의, 용도.

청구항 183

세포에서 AAVS1 유전자좌를 파괴하기 위한 제112항 내지 제118항 또는 제160항 내지 제166항 중 어느 한 항의 방법 또는 제119항 내지 제120항 또는 제167항 내지 제168항 중 어느 한 항의 RNA의, 용도.

청구항 184

세포에서 GPR146 유전자좌를 파괴하기 위한 제129항 내지 제137항 또는 제140항 내지 제148항 중 어느 한 항의 방법 또는 제138항 내지 제139항 또는 제149항 내지 제150항 중 어느 한 항의 RNA의, 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원**

[0002] 본 출원은 PCT 출원 번호 PCT/US21/31136호에 관한 것으로서, 이는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0003] **상호 참조**

[0004] 본 출원은 2021년 8월 27일에 출원된 미국 특허 가출원 제63/237,791호; 2021년 9월 17일에 출원된 미국 특허 가출원 제63/245,629호; 2021년 10월 6일에 출원된 미국 특허 가출원 제63/252,956호; 2021년 11월 24일에 출원된 미국 특허 가출원 제63/282,909호; 2022년 3월 4일에 출원된 미국 특허 가출원 제63/316,895호; 2022년 3월 14일에 출원된 미국 특허 가출원 제63/319,681호; 2022년 3월 23일에 출원된 미국 특허 가출원 제63/322,944호; 및 2022년 7월 29일에 출원된 미국 특허 가출원 제63/369,858호의 이익을 주장하며, 이들 각각은 그 전체 내용이 본원에 참조로서 통합된다.

배 경 기 술

[0005] Cas 효소는 이와 연관된 일정한 간격을 두고 주기적으로 분포하는 짧은 회문 반복서열(CRISPR) 가이드 리보핵산(RNA)과 함께 원핵 면역 체계의 만연한(약 45%의 박테리아, 약 84%의 고세균) 성분인 것으로 보이며, 이들은 CRISPR-RNA 가이드된 핵산 절단에 의해 비자기 핵산, 예컨대 감염성 바이러스 및 플라스미드에 대해 이러한 미생물을 보호하는 역할을 한다. CRISPR RNA 요소를 암호화하는 데옥시리보핵산(DNA) 요소는 구조 및 길이가 비교적 보존될 수 있지만, 이들의 CRISPR-연관(Cas) 단백질은 매우 다양하며, 매우 다양한 핵산-상호 작용 도메인을 함유한다. CRISPR DNA 요소는 1987년 초에 관찰되었지만, CRISPR/Cas 복합체의 프로그램 가능한 엔도뉴클레아제 절단 능력은 비교적 최근에 인식되었고, 이는 다양한 DNA 조작 및 유전자 편집 응용에서 재조합 CRISPR/Cas 시스템의 사용으로 이어지고 있다.

[0006] **서열 목록**

[0007] 본 출원은 XML 포맷으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 동 서열 목록은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 2022년 8월 26일에 생성된 상기 XML 사본의 명칭은 55921-731_601_SL.xml이며, 크기는 23,191,225바이트이다.

발명의 내용

[0008] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 베타-2-마이크로글로불린(B2M) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은: (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 B2M 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 B2M 유전자좌의 영역은 서열번호 6387-6468 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예

에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는, 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6305-6386 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, B2M 유전자좌의 영역은 서열번호 6388, 6399, 6401, 6403, 6410, 6413, 6421, 6446, 및 6448 중 어느 하나의 비-축퇴(non-degenerate) 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0009] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 T 세포 수용체 알파 불변(TRAC, T Cell Receptor Alpha Constant) 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은, (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 TRAC 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하며, 여기서 TRAC 유전자좌의 영역은 서열번호 6509-6548 또는 6805 중 어느 하나의 적어도 18개 연속 뉴클레오티도와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는, 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6469-6508 또는 6804 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, TRAC 유전자좌의 영역은 서열번호 6517, 6520, 및 6523 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0010] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 히포잔틴 포스포리보실전이효소 1(HPRT, Hypoxanthine Phosphoribosyltransferase) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 HPRT 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하며, 여기서 HPRT 유전자좌의 영역은 서열번호 6616-6682 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6549-6615 중 어느 하나와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, HPRT 유전자좌의 영역은 서열번호 6619, 6634, 6673, 6675, 및 6679 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0011] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 T 세포 수용체 베타 불변 1 또는 T 세포 수용체 베타 불변 2(TRBC1/2, T Cell Receptor Beta Constant 1 or T Cell Receptor Beta Constant 2) 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 TRBC1/2 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하며, 여기서 TRBC1/2 유전자좌의 영역은 서열번호 6722-6760 또는 6782-6802 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 표적화 서

열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6683-6721 및 6761-6781 중 어느 하나와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, TRBC1/2 유전자좌의 영역은 서열번호 6734, 6753, 6790, 및 6800 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 서열 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0012] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포 내의 히드록시산 옥시다제 1(HAO1, Hydroxyacid Oxidase 1) 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은, (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 HAO1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하며, 여기서 HAO1 유전자좌의 영역은 서열번호 11802-11820 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, HAO1 유전자좌의 영역은 서열번호 11806, 11813, 11816, 및 11819 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0013] 일부 측면에서, 본 개시내용은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 포함하는 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 여기서 조작된 가이드 RNA는 (i) 2'-O-메틸 뉴클레오티드; (ii) 2'-플루오로 뉴클레오티드; 또는 (iii) 포스포로티오에이트 결합을 포함하고; 여기서 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-431 또는 이의 변이체 중 어느 하나와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421과 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0014] 일부 측면에서, 본 개시내용은, (a) 서열번호 421-431 또는 이의 변이체 중 어느 하나와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 포함하는 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 표적 핵산 서열에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 이러한 시스템은 Cas9 효소를 포함하는 등가 시스템과 비교하여 인간 대상체에게 투여될 때 감소된 면역원성을 갖는다. 일부 실시예에서, Cas9 효소는 SpCas9 효소이다. 일부 실시예에서, 면역원성은 항체 면역원성이다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466-5467 및 11160-11162 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 뉴클레아제는 서열번호 421 또는 423 또는 이의 변이체 중 어느 하나와 적어도 약 75% 서열 동일성 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.

[0015] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제 또는 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제를 암호화하는 핵산; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서 조작된 가이드 RNA는 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록

구성되고, 조작된 가이드 RNA는 유전자좌의 영역에 혼성화하도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고; 여기서 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 조혈 줄기 세포(HSC), 또는 유도 만능 줄기 세포(iPSC)이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421 또는 이의 변이체와 적어도 약 75% 서열 동일성 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6804, 6806, 및 6808 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성인 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제를 암호화하는 핵산은 서열번호 6803 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 포함하는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 유전자좌의 영역은 서열번호 6805, 6807, 및 6809 중 어느 하나의 적어도 18개 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0016] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 CD2 분자(CD2) 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 CD2 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6853-6894 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6811-6852 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6813, 6841, 6843-6847, 6852, 또는 6852 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 표 6A에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6855, 6883, 6885-6889, 6892, 또는 6984 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성된다.

[0017] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 6811-6852 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 단리된 RNA 분자를 제공한다. 일부 실시예에서, RNA 분자는 표 6A에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0018] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 CD5 분자(CD5) 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 CD5 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6959-7022 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466 또는 6895-6958 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-431 또는 이의 변이체 중 어느 하나와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421과 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6897, 6904, 6906, 6911, 6928, 6930, 6932, 6934, 6938, 6945, 6950, 6952, 및 6958 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 표 7A에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6961, 6968, 6970, 6975, 6992, 6994, 6996, 6998, 7002, 7009, 7014, 7016, 및 7022 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열과 혼성화되도록 구성된다.

[0019] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 6895-6958 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 단리된 RNA 분자를 제공한다. 일부 실시예에서, RNA 분자는 표 7A에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0020] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 RNA 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은, (a) 서열번호 2242 또는 서열번호 2244, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 접촉시키는 단계를 포함하며; 여기서 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클

레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고 조작된 가이드 RNA는 RNA 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 RNA 유전자좌는 박테리아 또는 미생물 RNA를 포함하지 않는다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466 또는 서열번호 5539의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0021] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 Fas 세포 표면 사멸 수용체(FAS) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 도입하는 단계를 포함하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 인간 FAS 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7057-7090 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7023-7056 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7059, 7061, 7069, 7070, 7076, 7080, 7083, 7084, 7085, 또는 7088 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 혼성화하도록 구성된다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 서열번호 7025, 7027, 7035, 7036, 7042, 7046, 7049-7051, 또는 7054 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 표 8에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0022] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 7023-7056 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 단리된 RNA 분자를 제공한다. 일부 실시예에서, RNA 분자는 표 8에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0023] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 세포 예정사 1(PD-1, Programmed Cell Death 1) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 도입하는 단계를 포함하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 PD-1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7129-7166 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7091-7128 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을

추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7135, 7137, 7146, 7149, 7152, 7156, 7160, 7161, 7164, 7165, 또는 7166 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80%의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성된다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 서열번호 7097, 7099, 7108, 7111, 7114, 7118, 7122, 7123, 7126, 7127, 또는 7128 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 표 9에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0024] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 7091-7128 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 단리된 RNA 분자를 제공한다. 일부 실시예에서, RNA 분자는 표 9에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0025] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 인간 Rosa26 (hRosa26) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은, (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 도입하는 단계를 포함하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 hRosa26 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7199-7230 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7167-7198 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7205-7206, 7215, 7220, 7223, 또는 7225 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성된다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 서열번호 7173, 7174, 7183, 7188, 7191, 또는 7193 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 표 10에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0026] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 7167-7198 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 단리된 RNA 분자를 제공한다. 일부 실시예에서, RNA 분자는 표 10에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0027] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 T 세포 수용체 알파 불변(TRAC) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 도입하는 단계를 포함하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 TRAC 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7235-7238, 7248-7256, 7270, 또는 7278-7284 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어

도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7231-7234, 7239-7247, 7269, 또는 7271-7277 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 1512, 1756, 11711-11713, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5473, 5475, 11145, 11714, 또는 11715의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7235-7238, 7248-7256, 7270, 또는 7278-7284 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성된다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 서열번호 7231-7234, 7239-7244, 7269, 또는 7271-7277 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 표 11에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0028] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 7231-7234, 7239-7247, 7269, 또는 7271-7277 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 단리된 RNA 분자를 제공한다. 일부 실시예에서, RNA 분자는 표 11에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0029] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 아데노-연관 바이러스 통합 부위 1(AAVS1, Adeno-Associated Virus Integration Site 1) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 도입하는 단계를 포함하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 AAVS1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7261-7264 또는 7267-7268 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7257-7260 또는 7265-7266 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 1756 또는 11711, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5475 또는 11715의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 7261-7263 또는 7267-7268 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성된다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 서열번호 7257-7260 또는 7265-7266 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 표 12에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0030] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 7257-7260 또는 7265-7266 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 단리된 RNA 분자를 제공한다. 일부 실시예에서, RNA 분자는 표 12에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0031] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 히드록시산 옥시다제 1(HAO-1) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 도입하는 단계를 포함하며,

여기서 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 HAO-1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11773-11793 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성된다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11773, 11780, 11786, 또는 11787 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성된다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0032] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 11773-11793 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스페이서 서열 및 서열번호 5466과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스캐폴드 서열을 포함하는 단리된 RNA 분자를 제공한다.

[0033] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 인간 G 단백질-결합 수용체 146(GPR146, G Protein-Coupled Receptor 146) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 도입하는 단계를 포함하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 GPR146 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11406-11437 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11374-11405 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11425의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성된다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 서열번호 11393과 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 표 15에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0034] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 11374-11405 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스페이서 서열을 포함하는 단리된 RNA

분자를 제공한다. 일부 실시예에서, RNA 분자는 표 15에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0035] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 마우스 G 단백질-결합 수용체 146(GPR146) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 도입하는 단계를 포함하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 GPR146 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11473-11507 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11438-11472 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242, 또는 이의 변이체와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5466의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11482, 11488, 또는 11490 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성된다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 서열번호 11447, 11453, 또는 11455와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 표 16에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0036] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 11438-11472 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스페이서 서열을 포함하는 단리된 RNA 분자를 제공한다. 일부 실시예에서, RNA 분자는 표 16에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0037] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 T 세포 수용체 알파 불변(TRAC) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 도입하는 단계를 포함하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 TRAC 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11516-11517 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11514-11515 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11153의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11516 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성된다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 11716, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 서열번호 11514와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가

이드 RNA는 표 17에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0038] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 11514-11515 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스페이서 서열을 포함하는 단리된 RNA 분자를 제공한다. 일부 실시예에서, RNA 분자는 표 17에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0039] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 아데노-연관 바이러스 통합 부위 1(AAVS1) 유전자좌를 파괴하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 세포에 도입하는 단계를 포함하며, 여기서, 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 조작된 가이드 RNA는 AAVS1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11511-11513 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열에 상보적인 적어도 18-22개의 연속 뉴클레오티드를 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성되거나; 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11508-11510 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11717의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 서열번호 11511의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나 이와 혼성화되도록 구성된다. 일부 실시예에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 914, 또는 이의 변이체와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 서열번호 11508과 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 RNA는 표 17에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0040] 일부 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 11508-11510 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 스페이서 서열을 포함하는 단리된 RNA 분자를 제공한다. 일부 실시예에서, RNA 분자는 표 17에 인용된 가이드 RNA 중 어느 하나에 인용된 뉴클레오티드 변형의 패턴을 추가로 포함한다.

[0041] 일부 측면에서, 본 개시내용은 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템은 (a) 본원에 기술된 Cas 효과기 단백질 서열의 PI 도메인과 적어도 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제, 또는 이의 변이체; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고 조작된 가이드 RNA는 표적 핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 조작된 가이드 RNA는 본원에 기술된 sgRNA 서열 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 Cas 효과기 뉴클레아제 중 어느 하나의 RuvCIII 도메인 또는 HNH 도메인과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 RuvCIII 도메인 또는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 PAM 서열 중 어느 하나에 대해 선택성을 갖도록 구성된다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 본원에 기술된 Cas 효과기 서열 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 추가로 포함한다.

[0042] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 B2M 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나의 용

도를 제공한다.

[0043] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 TRAC 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나 또는 본원에 기술된 RNA 분자 중 어느 하나의 용도를 제공한다.

[0044] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 HPRT 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나의 용도를 제공한다.

[0045] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 TRBC1/2 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나의 용도를 제공한다.

[0046] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 HAO-1 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나 또는 본원에 기술된 RNA 분자 중 어느 하나의 용도를 제공한다.

[0047] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 CD2 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나 또는 본원에 기술된 RNA 분자 중 어느 하나의 용도를 제공한다.

[0048] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 CD5 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나 또는 본원에 기술된 RNA 분자 중 어느 하나의 용도를 제공한다.

[0049] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 FAS 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나 또는 본원에 기술된 RNA 분자 중 어느 하나의 용도를 제공한다.

[0050] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 PD-1 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나 또는 본원에 기술된 RNA 분자 중 어느 하나의 용도를 제공한다.

[0051] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 hRosa26 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나 또는 본원에 기술된 RNA 분자 중 어느 하나의 용도를 제공한다.

[0052] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 AAVS1 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나 또는 본원에 기술된 RNA 분자 중 어느 하나의 용도를 제공한다.

[0053] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 GPR146 유전자좌를 파괴하기 위한 본원에 기술된 방법 중 어느 하나 또는 본원에 기술된 RNA 분자 중 어느 하나의 용도를 제공한다.

[0054] 일부 측면에서, 본 개시내용은 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 조작된 시스템은 (a) RuvC_III 도메인 및 HNH 도메인을 포함하는 엔도뉴클레아제로서, 상기 엔도뉴클레아제는 미배양 미생물로부터 유래되고, 상기 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 엔도뉴클레아제; 및 (b) 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조로서 (i) 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 가이드 리보핵산 서열; 및 (ii) 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 tracr 리보핵산 서열을 포함하는, 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함한다. 일부 실시예에서, RuvC_III 도메인은 서열번호 1827-3637 중 어느 하나와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 88%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 또는 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0055] 일부 측면에서, 본 개시내용은 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템은 (a) 서열번호 1827-3637 중 어느 하나와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 88%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 또는 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 RuvC_III 도메인을 포함하는 엔도뉴클레아제; 및 (b) 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조로서 (i) 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 가이드 리보핵산 서열; 및 (ii) 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 tracr 리보핵산 서열을 포함하는, 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함한다.

[0056] 일부 측면에서, 본 개시내용은 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템은 (a) 서열번호 5512-5537을 포함하는 프로토스페이서 인접 모티프(PAM, protospacer adjacent motif) 서열에 결합하도록 구성된 엔도뉴클레아제로서, 상기 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 엔도뉴클레아제; 및 (b) 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조로서 (i) 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 가이드 리보핵산 서열; 및 (ii) 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 tracr 리보핵산 서열을 포함하는, 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함한다.

[0057] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 미배양 미생물로부터 유래된다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 상이한

PAM 서열에 결합하도록 조작되지 않았다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 Cas9 엔도뉴클레아제, Cas14 엔도뉴클레아제, Cas12a 엔도뉴클레아제, Cas12b 엔도뉴클레아제, Cas 12c 엔도뉴클레아제, Cas12d 엔도뉴클레아제, Cas12e 엔도뉴클레아제, Cas13a 엔도뉴클레아제, Cas13b 엔도뉴클레아제, Cas13c 엔도뉴클레아제, 또는 Cas 13d 엔도뉴클레아제가 아니다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 Cas9 엔도뉴클레아제와 80% 미만의 동일성을 갖는다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, tracr 리보핵산 서열은 서열번호 5476-5511 및 서열번호 5538 중 어느 하나로부터 선택되는 약 60 내지 90개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0058] 일부 측면에서, 본 개시내용은 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템은 (a) (i) 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 가이드 리보핵산 서열; 및 (ii) 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 tracr 리보핵산 서열로서, 여기서 tracr 리보핵산 서열은 서열번호 5476-5511 및 서열번호 5538 중 어느 하나로부터 선택되는 약 60 내지 90개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, tracr 리보핵산 서열을 포함하는, 조작된 가이드 리보핵산 구조; 및 (b) 조작된 가이드 리보핵산에 결합하도록 구성된 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5512-5537를 포함하는 군으로부터 선택되는 프로토스페이서 인접 모티프(PAM) 서열에 결합하도록 구성된다.

[0059] 일부 실시예에서, 조작된 가이드 리보핵산 구조는 적어도 2개의 리보핵산 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 가이드 리보핵산 구조는 가이드 리보핵산 서열 및 tracr 리보핵산 서열을 포함하는 하나의 리보핵산 폴리뉴클레오티드를 포함한다.

[0060] 일부 실시예에서, 가이드 리보핵산 서열은 원핵, 박테리아, 고세균, 진핵, 진균, 식물, 포유류, 또는 인간 게놈 서열에 상보적이다. 일부 실시예에서, 가이드 리보핵산 서열은 15 내지 24개 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 엔도뉴클레아제의 N-말단 또는 C-말단에 근접한 하나 이상의 핵 국소화 서열(NLS)을 포함한다. 일부 실시예에서, NLS는 서열번호 5597-5612로부터 선택되는 서열을 포함한다.

[0061] 일부 실시예에서, 조작된 뉴클레아제 시스템은, 5’에서 3’으로 다음을 포함하는 단일 또는 이중 가닥 DNA 복구 템플릿을 추가로 포함한다: 표적 데옥시리보핵산 서열에 대해 5’에 있는 적어도 20개 뉴클레오티드의 서열을 포함하는 제1 상동 아암, 적어도 10개 뉴클레오티드의 합성 DNA 서열, 및 표적 서열에 대해 3’에 있는 적어도 20개 뉴클레오티드의 서열을 포함하는 제2 상동 아암. 일부 실시예에서, 제1 또는 제2 상동 아암은 적어도 40, 80, 120, 150, 200, 300, 500, 또는 1,000개의 뉴클레오티드의 서열을 포함한다.

[0062] 일부 실시예에서, 시스템은 Mg2+의 공급원을 추가로 포함한다.

[0063] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제 및 tracr 리보핵산 서열은 동일한 문(phylum) 내의 구별되는 박테리아 종으로부터 유래된다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 더마박터(Dermabacter) 속에 속하는 박테리아로부터 유래된다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 베루코마이크로비아(Verrucomicrobia) 문, 칸디다투스 페레그리니박테리아(Candidatus Peregrinibacteria) 문, 또는 칸디다투스 멜라이나박테리아(Candidatus Melainabacteria) 문에 속하는 박테리아로부터 유래된다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5592-5595 중 어느 하나와 적어도 90% 동일성을 갖는 16S rRNA 유전자를 포함하는 박테리아로부터 유래된다.

[0064] 일부 실시예에서, HNH 도메인은 서열번호 5638-5460 중 어느 하나와 적어도 70% 또는 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 1-1826 또는 이와 적어도 55% 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 1827-1830 또는 서열번호 1827-2140으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0065] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 3638-3641 또는 서열번호 3638-3954로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5615-5632으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 펩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 1-4 또는 서열번호 1-319로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0066] 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5461-5464, 서열번호 5476-5479, 또는 서열번호 5476-5489로 이루어진 군으로부터 선태되는 서열과 서열 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 줄기 및 루프로 이루어진 헤어핀을 포함하도록 예측된 RNA 서열을 포함하며, 여기서 줄기는 적어도 10개, 적어도 12개 또는 적어도 14개의 염기쌍 리보뉴클레오티드, 및 루프의 4개의 염기쌍 내의 비대칭 벌지를 포함한다.

[0067] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5512-5515 또는 서열번호 5527-5530으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0068] 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 1827과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5461 또는 서열번호 5476 중 적어도 하나와 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5512 또는 서열번호 5527을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 1828과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5462 또는 서열번호 5477 중 적어도 하나와 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5513 또는 서열번호 5528을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 1829와 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5463 또는 서열번호 5478 중 적어도 하나와 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5514 또는 서열번호 5529를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 1830과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5464 또는 서열번호 5479 중 적어도 하나와 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5515 또는 서열번호 5530을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0069] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 또는 서열번호 2141-2142 또는 서열번호 2141-2241로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 3955-3956 또는 서열번호 3955-4055로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5632-5638로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 펩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 320-321 또는 서열번호 320-420으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5465, 서열번호 5490-5491 또는 서열번호 5490-5494로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA는 적어도 8개, 적어도 10개, 또는 적어도 12개의 염기쌍 리보뉴클레오티드를 포함하는 헤어핀을 포함하는 tracr 리보핵산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5516 및 서열번호 5531로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 2141과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5490과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5531을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 2142와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5465 또는 서열번호 5491과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5516을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0070] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 2245-2246으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 4059-4060으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5639-5648으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 펩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 424-425로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5498-5499 및 서열번호 5539로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 가이드 리보핵산 서열의 적어도 8개의 뉴클레오티드 및 tracr 리보핵산 서열의 적어도 8개의 뉴클레오티드를 포함하는 중단되지 않은 염기쌍 영역을 갖는 헤어핀을 포함하도록 예측되는 가이드 리보핵산 서열을 포함하고, 여기서 tracr 리보핵산 서열은 5’에서 3’으로, 제1 헤어핀 및 제2 헤어핀을 포함하고, 여기서 제1 헤어핀은 제2 헤어핀보다 긴 줄기를 갖는다.

[0071] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242-2244 또는 서열번호 2247-2249로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 4056-4058 및 서열번호 4061-4063로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5639-5648으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 펩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예

에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-423 또는 서열번호 426-428로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5466-5467, 서열번호 5495-5497, 서열번호 5500-5502, 및 서열번호 5539로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 가이드 리보핵산 서열의 적어도 8개의 뉴클레오티드 및 tracr 리보핵산 서열의 적어도 8개의 뉴클레오티드를 포함하는 중단되지 않은 염기쌍 영역을 갖는 헤어핀을 포함하도록 예측되는 가이드 리보핵산 서열을 포함하고, 여기서 tracr 리보핵산 서열은 5'에서 3'으로, 제1 헤어핀 및 제2 헤어핀을 포함하고, 여기서 제1 헤어핀은 제2 헤어핀보다 긴 줄기를 갖는다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5517-5518 또는 서열번호 5532-5534로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 2247과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5500과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5517 또는 서열번호 5532를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 2248과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5501과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5518 또는 서열번호 5533을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 2249와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5502와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5534를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0072] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 2253 또는 서열번호 2253-2481로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 4067 또는 서열번호 4067-4295로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5649에 따른 펩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 432 또는 서열번호 432-660으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5468 또는 서열번호 5503으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5519로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 2253과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5468 또는 서열번호 5503과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5519를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0073] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 2482-2489로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 4296-4303으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 661-668로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 2490-2498로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 4304-4312으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 669-677로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5504로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0074] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 2499 또는 서열번호 2499-2750로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 4313 또는 서열번호 4313-4564로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5650-5667로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 펩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 678 또는 서열번호 678-929로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5469 또는 서열번호 5505와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5520 또는 서열번호 5535를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 2499와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5469 또는 서열번호 5505와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5520 또는 서열번호

5535를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0075] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 2751 또는 서열번호 2751-2913으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 4565 또는 서열번호 4565-4727로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5668-5678로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 퀩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 930 또는 서열번호 930-1092으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5470 또는 서열번호 5506과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5521 또는 서열번호 5536으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 2751과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5470 또는 서열번호 5506과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5521 또는 서열번호 5536을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0076] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 2914 또는 서열번호 2914-3174로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 4728 또는 서열번호 4728-4988로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5676-5678로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 적어도 3개의 퀩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 1093 또는 서열번호 1093-1353으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5471, 서열번호 5507, 및 서열번호 5540-5542로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 5개 미만의 염기쌍 리보뉴클레오티드를 포함하는 적어도 2개의 헤어핀을 포함하도록 예측된 tracr 리보핵산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5522를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 2914와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5471 또는 서열번호 5507과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5522를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0077] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 3175 또는 서열번호 3175-3330으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 4989 또는 서열번호 4989-5146으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5679-5686으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 퀩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 1354 또는 서열번호 1354-1511로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5472 또는 서열번호 5508로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5523 또는 서열번호 5537로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 3175와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5472 또는 서열번호 5508과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5523 또는 서열번호 5537을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0078] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 3331 또는 서열번호 3331-3474로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5147 또는 서열번호 5147-5290으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5674-5675 및 서열번호 5687-5693으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 퀩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 1512 또는 서열번호 1512-1655으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5473 또는 서열번호 5509로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5524를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 3331과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고;

(b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5473 또는 서열번호 5509와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5524를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0079] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 3475 또는 서열번호 3475-3568로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5291 또는 서열번호 5291-5389로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5694-5699로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 펩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 1656 또는 서열번호 1656-1755로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5474 또는 서열번호 5510과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5525를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 3475와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5474 또는 서열번호 5510과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5525를 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다.

[0080] 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 3569 또는 서열번호 3569-3637로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5390 또는 서열번호 5390-5460으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5700-5717로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 펩티드 모티프를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 1756 또는 서열번호 1756-1826으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 가이드 RNA 구조는 서열번호 5475 또는 서열번호 5511과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5526을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, (a) 엔도뉴클레아제는 서열번호 3569와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (b) 가이드 RNA 구조는 서열번호 5475 또는 서열번호 5511과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하고; (c) 엔도뉴클레아제는 서열번호 5526을 포함하는 PAM에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, 서열 동일성은 BLASTP, CLUSTALW, MUSCLE, MAFFT, 또는 Smith-Waterman 상동성 검색 알고리즘 파라미터를 사용하는 CLUSTALW에 의해 결정된다. 일부 실시예에서, 서열 동일성은, 단어 길이(W) 3, 기대치(E) 10의 파라미터, 및 BLOSUM62 스코어링 매트릭스(존재 11, 연장 1의 갭 비용 설정)를 사용하고, 조건부 조성 스코어 매트릭스 조정을 사용하는, BLASTP 상동성 검색 알고리즘에 의해 결정된다.

[0081] 일부 측면에서, 본 개시내용은 (a) 표적 DNA 분자 내의 표적 서열에 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA-표적화 분절; 및 (b) 이중-가닥 RNA(dsRNA) 이중체를 형성하도록 혼성화되는 뉴클레오티드의 2개의 상보적 신장을 포함하는 단백질 결합 분절을 포함하는 조작된 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 뉴클레오티드의 2개의 상보적 신장은 개재 뉴클레오티드와 서로 공유 결합되고, 조작된 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드는 서열번호 1827-3637 중 어느 하나와 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 88%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 또는 적어도 98%서열 동일성을 갖는 RuvC_III 도메인을 포함하는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하여 해당 복합체를 표적 DNA 분자의 표적 서열에 대해 표적화하도록 구성된다. 일부 실시예에서, DNA-표적화 분절은 뉴클레오티드의 2개의 상보적 신장 둘 모두의 5’에 위치한다.

[0082] 일부 실시예에서: (a) 단백질 결합 분절은 서열번호 5476-5479 또는 서열번호 5476-5489로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 88%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 또는 적어도 98% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (b) 단백질 결합 분절은 (서열번호 5490-5491 또는 서열번호 5490-5494) 및 서열번호 5538로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (c) 단백질 결합 분절은 서열번호 5498-5499로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (d) 단백질 결합 분절은 서열번호 5495-5497 및 서열번호 5500-5502로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (e) 단백질 결합 분절은 서열번호 5503과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (f) 단백질 결합 분절은 서열번호 5504와 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (g) 단백질 결합 분절은 서열번호 5505와 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (h) 단백질 결합 분절은 서열번호 5506과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (i) 단백

질 결합 분절은 서열번호 5507과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (j) 단백질 결합 분절은 서열번호 5508과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (k) 단백질 결합 분절은 서열번호 5509와 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (l) 단백질 결합 분절은 서열번호 5510과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함하거나; (m) 단백질 결합 분절은 서열번호 5511과 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0083] 일부 실시예에서, (a) 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드는 줄기 및 루프를 포함하는 헤어핀을 포함하는 RNA 서열을 포함하고, 여기서 줄기는 적어도 10개, 적어도 12개, 또는 적어도 14개 염기쌍 리보뉴클레오티드, 및 루프의 4개 염기쌍 내의 비대칭 벌지를 포함하거나; (b) 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드는 적어도 8개, 적어도 10개, 또는 적어도 12개 염기쌍 리보뉴클레오티드를 포함하는 헤어핀을 포함하도록 예측된 tracr 리보핵산 서열을 포함하거나; (c) 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드는 가이드 리보핵산 서열의 적어도 8개 뉴클레오티드 및 tracr 리보핵산 서열의 적어도 8개 뉴클레오티드를 포함하는 중단되지 않은 염기쌍 영역을 갖는 헤어핀을 포함하도록 예측된 가이드 리보핵산 서열을 포함하고, 여기서 리보핵산 서열은, 5' 에서 3' 으로, 제1 헤어핀 및 제2 헤어핀을 포함하고, 여기서 제1 헤어핀은 제2 헤어핀보다 긴 줄기를 갖거나; (d) 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드는 5개 미만의 염기쌍 리보뉴클레오티드를 포함하는 적어도 2개의 헤어핀을 포함하도록 예측된 tracr 리보핵산 서열을 포함한다.

[0084] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 조작된 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드 중 어느 하나를 암호화하는 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드를 제공한다.

[0085] 일부 측면에서, 본 개시내용은 유기체에서의 발현에 최적화된 조작된 핵산 서열을 포함하는 핵산을 제공하며, 여기서 핵산은 RuvC_III 도메인 및 HNH 도메인을 포함하는 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제를 암호화하고, 여기서 엔도뉴클레아제는 미배양 미생물로부터 유래된다.

[0086] 일부 측면에서, 본 개시내용은 유기체에서의 발현에 최적화된 조작된 핵산 서열을 포함하는 핵산을 제공하며, 여기서 핵산은 서열번호 1827-3637 중 어느 하나와 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 RuvC_III 도메인을 포함하는 엔도뉴클레아제를 암호화한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 3638-5460 중 어느 하나와 적어도 70% 또는 적어도 80%의 서열 동일성을 갖는 HNH 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5572-5591, 또는 이와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 엔도뉴클레아제의 N-말단 또는 C-말단에 근접한 하나 이상의 핵 국소화 서열(NLS)을 암호화하는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, NLS는 서열번호 5597-5612로부터 선택되는 서열을 포함한다.

[0087] 일부 실시예에서, 유기체는 원핵생물, 박테리아, 진핵생물, 진균류, 식물, 포유류, 설치류 또는 인간이다. 일부 실시예에서, 유기체는 대장균이고, (a) 핵산 서열은 서열번호 5572-5575로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일성을 갖거나; (b) 핵산 서열은 서열번호 5576-5577로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일성을 갖거나; (c) 핵산 서열은 서열번호 5578-5580으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일성을 갖거나; (d) 핵산 서열은 서열번호 5581과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일성을 갖거나; (e) 핵산 서열은 서열번호 5582와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일성을 갖거나; (f) 핵산 서열은 서열번호 5583과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일성을 갖거나; (g) 핵산 서열은 서열번호 5584와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일성을 갖거나; (h) 핵산 서열은 서열번호 5585와 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일성을 갖거나; (i) 핵산 서열은 서열번호 5586과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일성을 갖거나; (j) 핵산 서열은 서열번호 5587과 적어도 70%, 80%, 또는 90% 동일성을 갖는다. 일부 실시예에서, 유기체는 인간이고, (a) 핵산 서열은 서열번호 5588 또는 서열번호 5589와 적어도 70%, 80%, 또는 90%의 동일성을 갖거나; (b) 핵산 서열은 서열번호 5590 또는 서열번호 5591과 적어도 70%, 80%, 또는 90%의 동일성을 갖는다.

[0088] 일부 측면에서, 본 개시내용은 RuvC_III 도메인및 HNH 도메인을 포함하는 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제를 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 벡터를 제공하며, 여기서 엔도뉴클레아제는 미배양 미생물로부터 유래된다.

[0089] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 핵산 중 어느 하나를 포함하는 벡터를 제공한다. 일부 실시예에서, 벡터는, (a) 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 가이드 리보핵산 서열; 및 (ii) 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 tracr 리보핵산 서열을 포함하는, 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조를 암호화하는 핵산을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 벡터는 플라스미드, 미니서클, CELiD, 아데노-연관 바이러스(AAV) 유래 비리온, 또는 렌티바이러스이다.

[0090] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 벡터 중 어느 하나를 포함하는 세포를 제공한다.

[0091] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 세포 중 어느 하나를 배양하는 단계를 포함하는, 엔도뉴클레아제를 제조하는 방법을 제공한다.

[0092] 일부 측면에서, 본 개시내용은 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드를 결합, 절단, 마킹, 또는 변형시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드를, 엔도뉴클레아제 및 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드에 결합하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조와의 복합체 중 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제와 접촉시키는 단계를 포함하며; (b) 여기서 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드는 프로토스페이서 인접 모티프(PAM)를 포함하고; (c) 여기서 PAM은 서열번호 5512-5526 또는 서열번호 5527-5537로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드는 조작된 가이드 리보핵산 구조의 서열에 상보적인 서열을 포함하는 제1 가닥 및 PAM을 포함하는 제2 가닥을 포함한다. 일부 실시예에서, PAM은 조작된 가이드 리보핵산 구조의 서열에 상보적인 서열의 3’ 말단에 바로 인접한다.

[0093] 일부 실시예에서, 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 Cas9 엔도뉴클레아제, Cas14 엔도뉴클레아제, Cas12a 엔도뉴클레아제, Cas12b 엔도뉴클레아제, Cas 12c 엔도뉴클레아제, Cas12d 엔도뉴클레아제, Cas12e 엔도뉴클레아제, Cas13a 엔도뉴클레아제, Cas13b 엔도뉴클레아제, Cas13c 엔도뉴클레아제, 또는 Cas 13d 엔도뉴클레아제가 아니다. 일부 실시예에서, 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 미배양 미생물로부터 유래된다. 일부 실시예에서, 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드는 진핵생물, 식물, 진균류, 포유류, 설치류, 또는 인간 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드이다.

[0094] 일부 실시예에서, (a) PAM은 서열번호 5512-5515 및 서열번호 5527-5530으로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하거나; (b) PAM은 서열번호 5516 또는 서열번호 5531을 포함하거나; (c) PAM은 서열번호 5539를 포함하거나; (d) PAM은 서열번호 5517 또는 서열번호 5518을 포함하거나; (e) PAM은 서열번호 5519를 포함하거나; (f) PAM은 서열번호 5520 또는 서열번호 5535를 포함하거나; (g) PAM은 서열번호 5521 또는 서열번호 5536을 포함하거나; (h) PAM은 서열번호 5522를 포함하거나; (i) PAM은 서열번호 5523 또는 서열번호 5537을 포함하거나; (j) PAM은 서열번호 5524를 포함하거나; (k) PAM은 서열번호 5525를 포함하거나; (l) PAM은 서열번호 5526을 포함한다.

[0095] 일부 실시예에서, 본 개시내용은 표적 핵산 유전자좌를 변형시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 조작된 뉴클레아제 시스템 중 어느 하나를 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계를 포함하고, 여기서, 엔도뉴클레아제는 조작된 가이드 리보핵산 구조와 복합체를 형성하도록 구성되고, 여기서 복합체는 해당 복합체가 표적 핵산 유전자좌에 결합할 때 복합체가 표적 핵산 유전자좌를 변형시키도록 구성된다. 일부 실시예에서, 표적 핵산 유전자좌를 변형시키는 단계는 표적 핵산 유전자좌에 대한 결합, 니킹, 절단, 또는 마킹하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 표적 핵산 유전자좌는 데옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA)을 포함한다. 일부 실시예에서, 표적 핵산은 게놈 DNA, 바이러스 DNA, 바이러스 RNA, 또는 박테리아 DNA를 포함한다. 일부 실시예에서, 표적 핵산 유전자좌는 시험관 내에 있다. 일부 실시예에서, 표적 핵산 유전자좌는 세포 내에 있다. 일부 실시예에서, 세포는 원핵 세포, 박테리아 세포, 진핵 세포, 진균 세포, 식물 세포, 동물 세포, 포유류 세포, 설치류 세포, 영장류 세포, 또는 인간 세포이다.

[0096] 일부 실시예에서, 조작된 뉴클레아제 시스템을 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계는 본원에 기술된 핵산 중 어느 하나 또는 본원에 기술된 벡터 중 어느 하나를 전달하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 뉴클레아제 시스템을 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계는 엔도뉴클레아제를 암호화하는 개방 해독 프레임을 포함하는 핵산을 전달하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 핵산은 엔도뉴클레아제를 암호화하는 개방 해독 프레임이 작동 가능하게 연결되는 프로모터를 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 뉴클레아제 시스템을 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계는 엔도뉴클레아제를 암호화하는 개방 해독 프레임을 함유하는 캡핑된 mRNA를 전달하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 뉴클레아제 시스템을 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계는 번역된 폴리펩티드를 전달하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 조작된 뉴클레아제 시스템을 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계는 리보핵산(RNA) pol III 프로모터에 작동 가능하게 연결된 조작된 가이드 리보핵산 구조를 암호화하는 데옥시리보핵산(DNA)을 전달하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 표적 유전자좌에서 또는 이에 근접하여 단일-가닥 파단 또는 이중-가닥 파단을 유도한다.

[0097] 일부 측면에서, 본 개시내용은 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템은 (a) 서열번호 5718-5846 또는 6257 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 엔도뉴클레아제;

및 (b) 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조로서: (i) 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 리보핵산 서열; 및 (ii) 상기 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 리보핵산 서열을 포함하는, 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함한다. 일부 측면에서, 본 개시내용은 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템은 (a) 서열번호 5847-5861 또는 6258-6278을 포함하는 프로토스페이서 인접 모티프 (PAM) 서열에 결합하도록 구성된 엔도뉴클레아제로서, 상기 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 엔도뉴클레아제; 및 (b) 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조로서: (i) 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 리보핵산 서열; 및 (ii) 상기 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 리보핵산 서열을 포함하는, 조작된 가이드 리보핵산 구조를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 미배양 미생물로부터 유래된다. 일부 실시예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 상이한 PAM 서열에 결합하도록 조작되지 않았다. 일부 실시예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 Cas9 엔도뉴클레아제, Cas14 엔도뉴클레아제, Cas12a 엔도뉴클레아제, Cas12b 엔도뉴클레아제, Cas 12c 엔도뉴클레아제, Cas12d 엔도뉴클레아제, Cas12e 엔도뉴클레아제, Cas13a 엔도뉴클레아제, Cas13b 엔도뉴클레아제, Cas13c 엔도뉴클레아제, 또는 Cas13d 엔도뉴클레아제가 아니다. 일부 실시예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 Cas9 엔도뉴클레아제와 80% 미만의 동일성을 갖는다. 일부 실시예에서, 상기 리보핵산 서열은 (a) 서열번호 5886-5887, 5891, 5893, 또는 5894 중 어느 하나; 또는 (b) 서열번호 5862-5885, 5888-5890, 5892, 5895-5896, 또는 6279-6301 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 본 개시내용은 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공하며, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템은, (a) 조작된 가이드 리보핵산 구조로서, (i) 표적 데옥시리보핵산 서열에 혼성화하도록 구성된 리보핵산 서열; 및 (ii) 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 리보핵산 서열을 포함하고, 여기서 상기 리보핵산 서열은 (a) 서열번호 5886-5887, 5891, 5893, 또는 5894 중 어나 하나; 또는 (b) 서열번호 5862-5885, 5888-5890, 5892, 5895-5896, 또는 6279-6301 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 조작된 가이드 리보핵산 구조; 및 상기 조작된 가이드 리보핵산에 결합하도록 구성된 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 실시예에서, 엔도뉴클레아제는 서열번호 5847-5861 또는 6258-6278을 포함하는 군으로부터 선택되는 프로토스페이서 인접 모티프(PAM) 서열에 결합하도록 구성된다. 일부 실시예에서, 상기 가이드 리보핵산 서열은 15 내지 24개 뉴클레오티드 길이 또는 19 내지 24개 뉴클레오티드 길이이다. 일부 실시예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 전술한 엔도뉴클레아제의 N-말단 또는 C-말단에 근접한 하나 이상의 핵 국소화 서열(NLS)을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 NLS는 서열번호 5597-5612로부터 선택되는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 시스템은, 5’에서 3’으로 다음을 포함하는 단일 또는 이중-가닥 DNA 복구 템플릿을 추가로 포함한다: 상기 표적 데옥시리보핵산 서열에 대해 5’에 있는 적어도 20개 뉴클레오티드의 서열을 포함하는 제1 상동 아암, 적어도 10개 뉴클레오티드의 합성 DNA 서열, 및 상기 표적 서열에 대해 3’에 있는 적어도 20개 뉴클레오티드의 서열을 포함하는 제2 상동 아암. 일부 실시예에서, 상기 제1 또는 제2 상동 아암은 적어도 40, 80, 120, 150, 200, 300, 500, 또는 1,000개의 뉴클레오티드의 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 서열 동일성은 BLASTP, CLUSTALW, MUSCLE, MAFFT, 또는 Smith-Waterman 상동성 검색 알고리즘 파라미터를 사용하는 CLUSTALW에 의해 결정된다. 일부 실시예에서, 상기 서열 동일성은, 단어 길이(W) 3, 기대치(E) 10의 파라미터, 및 BLOSUM62 스코어링 매트릭스(존재 11, 연장 1의 갭 비용 설정)를 사용하고, 조건부 조성 스코어 매트릭스 조정을 사용하는, 상기 BLASTP 상동성 검색 알고리즘에 의해 결정된다.

[0098] 일부 측면에서, 본 개시내용은 (a) 표적 DNA 분자 내의 표적 서열에 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA-표적화 분절; 및 (b) 이중-가닥 RNA(dsRNA) 이중체를 형성하기 위해 혼성화되는 뉴클레오티드의 2개의 상보적 신장을 포함하는 단백질 결합 분절을 포함하는, 조작된 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 뉴클레오티드의 상기 2개의 상보적 신장은 개재 뉴클레오티드와 서로 공유 결합되고, 상기 조작된 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드는 서열번호 5718-5846 또는 6257 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하여 상기 복합체를 상기 표적 DNA 분자의 표적 서열에 대해 표적화하도록 구성된다. 일부 실시예에서, 상기 DNA-표적화 분절은 뉴클레오티드의 상기 2개의 상보적 신장 둘 모두의 5’에 위치한다.

[0099] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 조작된 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드 중 어느 하나를 암호화하는 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드를 제공한다.

[0100] 일부 측면에서, 본 개시내용은 유기체에서의 발현에 최적화된 조작된 핵산 서열을 포함하는 핵산을 제공하며, 여기서 상기 핵산은 서열번호 5718-5846 또는 6257 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 포함하는 서열을 포함하는 엔도뉴클레아제를 암호화한다. 일부 실시예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 상기 엔도뉴클레아제의 N-말단 또는 C-말단에 근접한 하나 이상의 핵 국소화 서열(NLS)을 암호화하는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서,

상기 NLS는 서열번호 5597-5612로부터 선택되는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 유기체는 원핵생물, 박테리아, 진핵생물, 진균류, 식물, 포유류, 설치류 또는 인간이다.

[0101] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 핵산 중 어느 하나를 포함하는 벡터를 제공한다. 일부 실시예에서, 벡터는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조로서: (a) 표적 데옥시리보핵산 서열과 혼성화되도록 구성된 리보핵산 서열; 및 (b) 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 리보핵산 서열을 포함하는, 조작된 가이드 핵산 구조를 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 벡터는 플라스미드, 미니서클, CELiD, 아데노-연관 바이러스(AAV) 유래 비리온, 또는 렌티바이러스이다.

[0102] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 벡터 중 어느 하나를 포함하는 세포를 제공한다.

[0103] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 세포 중 어느 하나를 배양하는 단계를 포함하는, 엔도뉴클레아제를 제조하는 방법을 제공한다.

[0104] 일부 측면에서, 본 개시내용은 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드를 결합, 절단, 마킹, 또는 변형시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드를, 상기 엔도뉴클레아제 및 상기 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드에 결합하도록 구성된 조작된 가이드 리보핵산 구조로 복합체 중 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제와 접촉시키는 단계를 포함하며; 여기서 상기 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드는 프로토스페이서 인접 모티프(PAM)를 포함하고; 상기 PAM은 서열번호 5847-5861 또는 6258-6278로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드는 상기 조작된 가이드 리보핵산 구조의 서열에 상보적인 서열을 포함하는 제1 가닥 및 상기 PAM을 포함하는 제2 가닥을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 PAM은 상기 조작된 가이드 리보핵산 구조의 상기 서열에 상보적인 상기 서열의 3’ 말단에 바로 인접한다. 일부 실시예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 Cas9 엔도뉴클레아제, Cas14 엔도뉴클레아제, Cas12a 엔도뉴클레아제, Cas12b 엔도뉴클레아제, Cas 12c 엔도뉴클레아제, Cas12d 엔도뉴클레아제, Cas12e 엔도뉴클레아제, Cas13a 엔도뉴클레아제, Cas13b 엔도뉴클레아제, Cas13c 엔도뉴클레아제, 또는 Cas 13d 엔도뉴클레아제가 아니다. 일부 실시예에서, 상기 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드는 진핵생물, 식물, 진균류, 포유류, 설치류, 또는 인간 이중-가닥 데옥시리보핵산 폴리뉴클레오티드이다.

[0105] 일부 측면에서, 본 개시내용은 표적 핵산 유전자좌를 변형시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 기술된 조작된 뉴클레아제 시스템 중 어느 하나를 상기 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계를 포함하며, 여기서, 상기 엔도뉴클레아제는 상기 조작된 가이드 리보핵산 구조와 복합체를 형성하도록 구성되고, 여기서 상기 복합체는 상기 복합체가 상기 표적 핵산 유전자좌에 결합할 때 상기 복합체가 상기 표적 핵산 유전자좌를 변형시키도록 구성된다. 일부 실시예에서, 상기 표적 핵산 유전자좌는 상기 표적 핵산 유전자좌를 결합, 니킹, 절단, 또는 마킹하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 표적 핵산 유전자좌는 데옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA)을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 표적 핵산은 게놈 DNA, 바이러스 DNA, 바이러스 RNA, 또는 박테리아 DNA를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 표적 핵산 유전자좌는 시험관 내에 있다. 일부 실시예에서, 상기 표적 핵산 유전자좌는 세포 내에 있다. 일부 실시예에서, 상기 세포는 원핵 세포, 박테리아 세포, 진핵 세포, 진균 세포, 식물 세포, 동물 세포, 포유류 세포, 설치류 세포, 영장류 세포, 또는 인간 세포이다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템을 상기 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계는 본원에 기술된 핵산 중 어느 하나 또는 본원에 기술된 벡터 중 어느 하나를 전달하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템을 상기 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계는 상기 엔도뉴클레아제를 암호화하는 개방 해독 프레임을 포함하는 핵산을 전달하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 핵산은 상기 엔도뉴클레아제를 암호화하는 상기 개방 해독 프레임이 작동 가능하게 연결되는 프로모터를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템을 상기 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계는 상기 엔도뉴클레아제를 암호화하는 상기 개방 해독 프레임을 함유하는 캡핑된 mRNA를 전달하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템을 상기 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계는 번역된 폴리펩티드를 전달하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 뉴클레아제 시스템을 상기 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계는 리보핵산(RNA) pol III 프로모터에 작동 가능하게 연결된 상기 조작된 가이드 리보핵산 구조를 암호화하는 데옥시리보핵산(DNA)을 전달하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 엔도뉴클레아제는 상기 표적 유전자좌에서 또는 이에 근접하여 단일-가닥 파단 또는 이중-가닥 파단을 유도한다.

[0106] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 TRAC 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포와 접촉하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된

가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRAC 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 표적화 서열을 포함하고, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5950-5958 또는 5959-5965 중 어느 하나의 적어도 19개, 적어도 20개, 적어도 21개, 적어도 22개, 적어도 23개, 또는 적어도 24개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 클래스 II, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421 또는 서열번호 423과 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5950-5958 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하고, 상기 엔도뉴클레아제는 서열번호 421과 적어도 75% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5959-5965 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하고, 상기 엔도뉴클레아제는 서열번호 423과 적어도 75% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5953-5957 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5960-5961 또는 5963-5964 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다.

[0107] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 TRBC 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRBC 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5966-6004 또는 6005-6025 중 어느 하나의 적어도 19개, 적어도 20개, 적어도 21개, 적어도 22개, 적어도 23개, 또는 적어도 24개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 클래스 II, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421 또는 서열번호 423과 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5966-6004 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하고, 상기 엔도뉴클레아제는 서열번호 421과 적어도 75% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6005-6025 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하고, 상기 엔도뉴클레아제는 서열번호 423과 적어도 75% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 5970, 5971, 5983, 또는 5984 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와

적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6006, 6010, 6011, 또는 6012 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다.

[0108] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 GR (NR3C1) 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 GR(NR3C1) 유전자좌의 영역에 혼성화하도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6026-6090 또는 6091-6121 중 어느 하나의 적어도 19개, 적어도 20개, 적어도 21개, 적어도 22개, 적어도 23개, 또는 적어도 24개의 연속 뉴클레오티드 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 클래스 II, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421 또는 서열번호 423과 적어도 75% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6026-6090 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하고, 상기 엔도뉴클레아제는 서열번호 421과 적어도 75% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6091-6121 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하고, 상기 엔도뉴클레아제는 서열번호 423과 적어도 75% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6027-6028, 6029, 6038, 6043, 6049, 6076, 6080, 6081, 또는 6086 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6092, 6115, 또는 6119 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다.

[0109] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 AAVS1 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 AAVS1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6122-6152 중 어느 하나의 적어도 19개, 적어도 20개, 적어도 21개, 적어도 22개, 적어도 23개, 또는 적어도 24개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 클래스 II, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421 또는 서열번호 423과 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6122, 6125-6126, 6128, 6131, 6133, 6136, 6141, 6143, 또는 6148 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다.

[0110] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 TIGIT 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TIGIT 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6153-6181 중 어느 하나의 적어도 19개, 적어도 20개, 적어도 21개, 적어도 22개, 적어도 23개, 또는 적어도 24개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 클래스 II, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421 또는 서열번호 423과 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 66155, 6159, 616, 또는 6172 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다.

[0111] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 CD38 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 CD38 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6182-6248 또는 6249-6256 중 어느 하나의 적어도 19개, 적어도 20개, 적어도 21개, 적어도 22개, 적어도 23개, 또는 적어도 24개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 클래스 II, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421 또는 서열번호 423과 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6182-6248 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하고, 상기 엔도뉴클레아제는 서열번호 421과 적어도 75% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6249-6256 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하고, 상기 엔도뉴클레아제는 서열번호 423과 적어도 75% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6182-6183, 6189, 6191, 6208, 6210, 6211, 또는 6215 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6251의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다.

[0112] 상기 세포에서 특정 유전자좌를 편집하기 위한 방법 중 어느 하나의 일부 실시예에서, 상기 세포는 말초 혈액

단핵 세포, T-세포, NK 세포, 조혈 줄기 세포(HSCT), 또는 B-세포, 또는 이들의 임의의 조합이다.

[0113] 일부 측면에서, 본 개시내용은 (a) 표적 DNA 분자 내의 표적 서열에 상보적인 뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA-표적화 분절; 및 (b) 이중-가닥 RNA(dsRNA) 이중체를 형성하도록 혼성화되는 뉴클레오티드의 2개의 상보적 신장을 포함하는 단백질-결합 분절을 포함하는, 조작된 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드를 제공하며, 여기서 상기 뉴클레오티드의 2개의 상보적 신장은 개재 뉴클레오티드와 서로 공유 결합되고, 상기 조작된 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드는 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하여 상기 복합체를 상기 표적 DNA 분자의 상기 표적 서열에 표적화하도록 구성되고, 상기 DNA-표적화 분절은 서열번호 5950-5965, 5966-6025, 6026-6121, 6122-6152, 6153-6181, 또는 6182-6256 중 어느 하나의 적어도 19개, 적어도 20개, 적어도 21개, 적어도 22개, 적어도 23개, 또는 적어도 24개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 단백질-결합 분절은 서열번호 5466 또는 6304 중 어느 하나와 적어도 85%의 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0114] 일부 측면에서, 본 개시내용은 편집된 면역 세포를 생성하기 위한 시스템을 제공하며, 상기 시스템은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; (b) 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제에 결합하도록 구성된 제97항에 따른 조작된 가이드 리보핵산 폴리뉴클레오티드; 및 (c) 키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 서열의 측면에 위치하는 제1 및 제2 상동성 아암을 포함하는 단일- 또는 이중-가닥 DNA 복구 템플릿을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 세포는 말초 혈액 단핵 세포, T-세포, NK 세포, 조혈 줄기 세포(HSCT), 또는 B-세포, 또는 이들의 임의의 조합이다. 일부 측면에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 클래스 II, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 측면에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 측면에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 측면에서, RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421 또는 서열번호 423과 적어도 75% 동일성, 적어도 80% 동일성, 적어도 82% 동일성, 적어도 84% 동일성, 적어도 86% 동일성, 적어도 88% 동일성, 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 적어도 96% 동일성, 적어도 97% 동일성, 적어도 98% 동일성, 적어도 99% 동일성, 또는 적어도 100% 동일성을 갖는 서열을 포함한다.

[0115] 본 개시의 추가 측면 및 이점은, 본 개시의 예시적인 실시예만이 도시되고 설명되는, 다음의 상세한 설명으로부터 당업자에게 쉽게 명백해질 것이다. 인지하게 되겠지만, 본 개시내용은 다른 실시예 및 상이한 실시예가 가능하고, 본 개시의 몇몇 세부 사항은 다양한 명백한 측면에서 본 개시를 벗어나지 않고도 변형될 수 있다. 따라서, 도면 및 본 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용은 본질적으로 예시적인 것으로 간주되어야 하며, 제한적인 것으로 간주되지 않아야 한다.

[0116] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 B2M 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 B2M 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 상기 B2M 유전자좌의 영역은 서열번호 6387-6468 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 Cas 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421과 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6305-6386 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 B2M 유전자좌의 영역은 서열번호 6388, 6399, 6401, 6403, 6410, 6413, 6421, 6446, 및 6448 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드

의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6306, 6317, 6319, 6321, 6328, 6331, 6339, 6364, 및 6366 중 어느 하나와 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0117] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 TRAC 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRAC 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 상기 TRAC 유전자좌의 영역은 서열번호 6509-6548 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 Cas 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421과 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6469-6508 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 TRAC 유전자좌의 영역은 서열번호 6517, 6520, 및 6523 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6477, 6480, 및 6483 중 어느 하나와 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0118] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 HPRT 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 HPRT 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 상기 HPRT 유전자좌의 영역은 서열번호 6616-6682 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 Cas 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421 또는 서열번호 423과 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6549-6615 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 HPRT 유전자좌의 영역은 서열번호 6619, 6634, 6673, 6675, 및 6679 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 : 6552, 6567, 6606, 6608, 및 6612 중 어느 하나와 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0119] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 TRBC1/2 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRBC1/2 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 상기 TRBC1/2 유전자좌의 영역은 서열번호 6722-6760 또는 6782-6802 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 Cas 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421 또는 서열번호 423과 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6683-6721 및 6761-6781 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 TRBC1/2 유전자좌의 영역은 서열번호 6734, 6753, 6790, 및 6800 중

어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 조작된 가이드 RNA는 서열번호 6695, 6714, 6769, 및 6779 중 어느 하나와 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0120] 일부 측면에서, 본 개시내용은 세포에서 HAO1 유전자좌를 편집하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및 (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 HAO1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고, 여기서 상기 HAO1 유전자좌의 영역은 서열번호 11802-11820 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 Cas 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 실시예에서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 HNH 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제는 서열번호 421과 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 HAO1 유전자좌의 영역은 서열번호 11806, 11813, 11816, 및 11819 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)이다. 일부 실시예에서, 상기 세포는 T-세포 또는 이의 전구체, 또는 조혈 줄기 세포(HSC)이다.

[0121] **참조에 의한 통합**

[0122] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허, 및 특허 출원은 마치 각각의 개별 간행물, 특허, 또는 특허 출원이 참조에 의해 구체적으로 및 개별적으로 통합된 것으로 표시된 것과 동일한 정도로 참조에 의해 본원에 통합된다.

도면의 간단한 설명

[0123] 본 발명의 신규한 특징은 특히 첨부된 청구범위에 명시되어 있다. 본 발명의 특징 및 장점은 본 발명의 원리가 활용되는 예시적인 실시예가 제시되는 하기 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용 및 첨부 도면(본원에서의 "도(figure/FIG)")을 참조함으로써 더 잘 이해될 것이다.

도 1은 B2M에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과를 도시한다.

도 2a 및 **도 2b**는 마우스 TRAC에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과를 도시한다.

도 3은 HPRT에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과를 도시한다.

도 4는 인간 TRBC1/2의 유전자 편집에 대한 유세포 계측법 결과를 도시한다.

도 5는 Hepa1-6 세포에서 가이드 스크리닝의 결과를 도시하는데; 가이드는 리포펙타민 메신저 맥스(lipofectamine Messenger Max)를 사용하여 mRNA 및 gRNA로서 전달되었다.

도 6은 T 세포에서 mRNA 전기천공에 대한, NGS에 의한 유전자 편집 결과의 분석을 도시한다.

도 7은 MG-3-6 및 MG3-8에 대한 항체를 검출하기 위해 1:50의 혈청 희석에서 수행된 스크리닝으로부터의ELISA 결과를 도시한다(n = 50). 파상풍 톡소이드는 해당 항원에 대한 광범위한 백신접종으로 인해 양성 대조군으로서 사용되었다. 파선 위의 혈청 샘플은 항체 양성으로 간주되었으며; 해당 선은 음성 대조군(인간 알부민)의 평균 흡광도 + 평균으로부터 2개의 표준 편차를 나타낸다. *P<0.05, **P<0.01, ****P<0.0001, 비쌍 스튜던트 *t* 검정에 의해 결정됨; ns, 유의미하지 않음.

도 8은 인간 말초 혈액 B 세포에서 TRAC에 대한 DNA 및 세포-표면 단백질 수준에서의 유전자 편집 결과를 도시한다.

도 9는 조혈 줄기 세포에서 TRAC에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과를 도시한다.

도 10은 리보핵단백질로서 전달된 MG3-6에 대한 유도 만능 줄기 세포(iPSC)에서 TRAC에 대한 DNA 및 세포-표면 단백질 수준에서의 유전자 편집 결과를 도시한다.

도 11은 mRNA로서 전달된 MG3-6에 대한 유도 만능 줄기 세포(iPSC)에서 TRAC에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편

집 결과를 도시한다.

도 12는 1차 T 세포에서 CD2에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 13은 1차 T 세포에서 CD5에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 14는 MG3-6 및 MG3-8에 의한 표적화된 RNA 절단을 도시한다.

도 15는 T 세포에서 FAS에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 16은 T 세포에서 PD-1에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 17은 T 세포에서 hRosa26에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 18은 K562 세포 중 TRAC 및 AAVS1에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 19는 화학적으로 변형된 MG3-6 인간 HAO-1 가이드를 리포펙타민 메신저 맥스를 사용하여 mRNA 및 gRNA로서 전달했을 때, Hep3B 세포에서 이들의 활성을 도시한다.

도 20은 Hep3B 세포에서 인간 GPR146에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과를 도시한다.

도 21은 Hepa1-6 세포에서 마우스 GPR146에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과를 도시한다.

도 22는 1차 마우스 간세포에서 마우스 GPR146에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과를 도시한다.

도23은 K562 세포 중 TRAC 및 AAVS1에 대한 유전자 편집 결과를 DNA 수준으로 도시한다.

도 24는 MG3 및 MG150 계열로부터의 뉴클레아제의 계통유전학적 분석을 도시한다. 일부 활성 후보에 대한 PAM SeqLogo 표현이 도시되어 있다. 기준 SaCas9 및 SpyCas9 서열이 포함되어 있다.

도 25는 MG15 계열의 뉴클레아제의 계통유전학적 분석을 도시한다. 활성 후보가 원으로 강조 표시 되어있다. 기준 SaCas9, SpyCas9, 및 AcCas9 서열이 아웃그룹으로서 포함되어 있다.

도26은 MG123-1, MG124-2, MG 125-1 및 MG125-2에 대한 PAM의 SeqLogos를 도시한다.

도27은 MG125-3, MG125-4, MG125-5, 및 MG150-5에 대한 PAM의 SeqLogos를 도시한다.

도 28은 MG150-6, MG150-7, MG150-8, 및 MG150-9에 대한 PAM의 SeqLogos를 도시한다.

도 29는 MG3-18, MG3-89, MG3-90, 및 MG3-91에 대한 PAM의 SeqLogos를 도시한다.

도 30은 MG3-92, MG3-93, MG3-95, 및 MG3-96에 대한 PAM의 SeqLogos를 도시한다.

도 31은 MG3-103, MG15-130, MG15-146, 및 MG15-164에 대한 PAM의 SeqLogos를 도시한다.

도 32는 MG15-166, MG15-171, MG15-172, 및 MG15-174에 대한 PAM의 SeqLogos를 도시한다.

도 33은 MG15-184, MG15-187, MG15-191, 및 MG15-193에 대한 PAM의 SeqLogos를 도시한다.

도 34는 MG15-195, MG15-217, MG15-218, 및 MG15-219에 대한 PAM의 SeqLogos를 도시한다.

도 35는 MG15-177에 대한 PAM의 SeqLogo를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0124] **서열 목록에 대한 간단한 설명**

[0125] 본원과 함께 제출된 서열 목록은 본 개시내용에 따른 방법, 조성물, 및 시스템에 사용하기 위한 예시적인 폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드 서열을 제공한다. 서열 목록 내 서열에 대한 예시적인 설명이 아래에 제시되어 있다.

[0126] **MG1**

[0127] 서열번호 1-319 및 7285-7293은 MG1 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0128] 서열번호 1827-2140은 상기 MG1 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0129] 서열번호 3638-3955은 상기 MG1 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0130] 서열번호 5476-5479는 상기 MG1 뉴클레아제와 동일한 유전자좌(예를 들어, 각각 서열번호 1-4와 동일한 유전자좌)로부터 유래된 MG1 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0131] 서열번호 5461-5464 및 11130은 MG1 뉴클레아제(예를 들어, 각각 서열번호 1-4)와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타내며, 여기서 N은 표적화 서열의 뉴클레오티드를 나타낸다.

[0132] 서열번호 5572-5575은 MG1 계열 효소(서열번호 1-4)에 대한 대장균 코돈-최적화된 암호화 서열에 대한 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0133] 서열번호 5588-5589은 MG1 계열 효소(서열번호 1 및 3)에 대한 인간 코돈-최적화된 암호화 서열에 대한 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0134] 서열번호 5616-5632는 MG1 계열 효소의 펩티드 모티프 특징을 나타낸다.

[0135] 서열번호 9192-9255는 MG1 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0136] 서열번호 11229-11269는 MG1 뉴클레아제의 표적 부위의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0137] **MG2**

[0138] 서열번호 320-420 및 7294-7358는 MG2 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0139] 서열번호 2141-2241는 상기 MG2 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0140] 서열번호 3955-4055는 상기 MG2 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0141] 서열번호 5490-5494 및 11159는 상기 MG2 뉴클레아제와 동일한 유전자좌(예를 들어, 각각 서열번호 320, 321, 323, 325, 및 326과 동일한 유전자좌)로부터 유래된 MG2 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0142] 서열번호 5465는 MG2 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다(예를 들어, 상기 서열번호 321).

[0143] 서열번호 5572-5575는 MG2 계열 효소에 대한 대장균 코돈-최적화된 암호화 서열에 대한 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0144] 서열번호 5631-5638은 MG2 계열 효소의 특징적인 펩티드 서열을 나타낸다.

[0145] 서열번호 9256-9322는 MG2 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0146] 서열번호 11270-11275는 MG2 뉴클레아제의 표적 부위의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0147] **MG3**

[0148] 서열번호 421-431은 MG3 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0149] 서열번호 6803은 5' UTR, NLS, CDS, NLS, 3' UTR, 및 폴리A 꼬리를 함유하는 MG3-6 뉴클레아제의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0150] 서열번호 2242-2252는 상기 MG3 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0151] 서열번호 4056-4066는 상기 MG3 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0152] 서열번호 5495-5502 및 11160-11162는 상기 MG3 뉴클레아제와 동일한 유전자좌(예를 들어, 각각 서열번호 421-428과 동일한 유전자좌)로부터 유래된 MG3 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0153] 서열번호 5466-5467, 11131, 및 11567-11576은 MG3 뉴클레아제(예를 들어, 서열번호 421-423)와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0154] 서열번호 5578-5580은 MG3 계열 효소에 대한 대장균 코돈-최적화된 암호화 서열에 대한 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0155] 서열번호 5639-5648은 MG3 계열 효소의 특징적인 펩티드 서열을 나타낸다.

[0156] 서열번호 9323-9329는 MG3 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0157] 서열번호 11108 및 11530-11538은 MG3 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0158] 서열번호 11276-11294은 MG1 뉴클레아제의 표적 부위의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0159] 서열번호 11373은 MG3-6 mRNA를 암호화하는 DNA 서열의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0160] **MG3a**

[0161] 서열번호 7369-7375는 MG3a 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 보여준다.

[0162] 서열번호 11099는 MG3a 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0163] **MG3b**

[0164] 서열번호 7376-7390은 MG3b 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 보여준다.

[0165] 서열번호 11100-11107은 MG3b 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0166] **MG4**

[0167] 서열번호 432-660 및 7391-7535는 MG4 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0168] 서열번호 2253-2481은 상기 MG4 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0169] 서열번호 4067-4295는 상기 MG4 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0170] 서열번호 5503은 상기 MG4 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG4 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0171] 서열번호 5468은 MG4 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0172] 서열번호 5649는 MG4 계열 효소의 펩티드 서열 특성을 나타낸다.

[0173] 서열번호 9330-9485는 MG4 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0174] 서열번호 11295-11303은 MG4 뉴클레아제의 표적 부위의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0175] **MG5**

[0176] 서열번호 7536-7583은 MG5 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0177] 서열번호 9486-9526은 MG5 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0178] **MG6**

[0179] 서열번호 661-668 및 7584-7587은 MG6 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0180] 서열번호 2482-2489는 상기 MG6 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0181] 서열번호 4296-4303은 상기 MG3 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0182] 서열번호 9527-9531은 MG6 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0183] **MG7**

[0184] 서열번호 669-677은 MG7 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0185] 서열번호 2490-2498은 상기 MG7 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0186] 서열번호 4304-4312는 상기 MG3 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0187] 서열번호 5504는 상기 MG7 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG7 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0188] 서열번호 9532-9535는 MG7 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0189] **MG14**

[0190] 서열번호 678-929 및 7588-7597은 MG14 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0191] 서열번호 2499-2750은 상기 MG14 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0192] 서열번호 4313-4564는 상기 MG14 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0193] 서열번호 5505 및 11163-11167는 상기 MG14 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG14 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0194] 서열번호 5581은 MG14 계열 효소에 대한 대장균 코돈-최적화된 암호화 서열에 대한 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0195] 서열번호 5650-5667은 MG14 계열 효소의 특징적인 펩티드 서열을 나타낸다.

[0196] 서열번호 9536-9611은 MG14 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0197] 서열번호 11109-11113은 MG14 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0198] 서열번호 11132-11136은 MG14 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0199] 서열번호 11304-11312는 MG14 뉴클레아제의 표적 부위의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0200] **MG15**

[0201] 서열번호 930-1092, 7598-7622, 및 11593-11616은 MG15 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 보여준다.

[0202] 서열번호 2751-2913은 상기 MG15 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0203] 서열번호 4565-4727은 상기 MG15 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0204] 서열번호 5506 및 11168-11172은 상기 MG15 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG15 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0205] 서열번호 5470 및 11577-11592는 MG15 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0206] 서열번호 5582는 MG15 계열 효소에 대한 대장균 코돈-최적화된 암호화 서열에 대한 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0207] 서열번호 5668-5675는 MG15 계열 효소의 특징적인 펩티드 서열을 나타낸다.

[0208] 서열번호 9612-9671은 MG15 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0209] 서열번호 11539-11554는 MG15 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0210] **MG16**

[0211] 서열번호 1093-1353 및 7623-7698은 MG16 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0212] 서열번호 2914-3174는 상기 MG16 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0213] 서열번호 4728-4988은 상기 MG16 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0214] 서열번호 5507 및 11173-11174는 상기 MG16 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG16 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0215] 서열번호 5471 및 11137은 MG16 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0216] 서열번호 5583은 MG16 계열 효소에 대한 대장균 코돈-최적화된 암호화 서열에 대한 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0217] 서열번호 5676-5678은 MG16 계열 효소의 특징적인 펩티드 서열을 나타낸다.

[0218] 서열번호 9672-9842는 MG16 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0219] 서열번호 11114는 MG16 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0220] 서열번호 11313-11320은 MG16 뉴클레아제의 표적 부위의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0221] **MG17**

[0222] 서열번호 7699-7715는 MG17 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0223] 서열번호 9843-9856은 MG17 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0224] 서열번호 11115는 MG17 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0225] 서열번호 11138은 MG17 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0226] 서열번호 11175는 상기 MG17 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG17 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0227] **MG18**

[0228] 서열번호 1354-1511은 MG18 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0229] 서열번호 3175-3330은 상기 MG18 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0230] 서열번호 4989-5146은 상기 MG18 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0231] 서열번호 5508은 상기 MG18 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG18 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0232] 서열번호 5472는 MG18 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0233] 서열번호 5584는 MG18 계열 효소에 대한 대장균 코돈-최적화된 암호화 서열에 대한 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0234] 서열번호 5679-5686은 MG18 계열 효소의 특징적인 펩티드 서열을 나타낸다.

[0235] 서열번호 9857-9891은 MG18 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0236] 서열번호 11321-11327은 MG18 뉴클레아제의 표적 부위의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0237] **MG21**

[0238] 서열번호 1512-1655 및 7716-7733은 MG21 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0239] 서열번호 3331-3474는 상기 MG21 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0240] 서열번호 5147-5290은 상기 MG21 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0241] 서열번호 5509 및 11176-11178은 상기 MG21 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG21 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0242] 서열번호 5473 및 11139는 MG21 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0243] 서열번호 5585는 MG21 계열 효소에 대한 대장균 코돈-최적화된 암호화 서열에 대한 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0244] 서열번호 5687-5692 및 5674-5675은 MG21 계열 효소의 특징적인 펩티드 서열을 나타낸다.

[0245] 서열번호 9892-9951은 MG21 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0246] 서열번호 11116은 MG21 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0247] 서열번호 11328-11336은 MG21 뉴클레아제의 표적 부위의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0248] **MG22**

[0249] 서열번호 1656-1755는 MG22 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0250] 서열번호 3475-3568은 상기 MG22 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0251] 서열번호 5291-5389은 상기 MG22 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0252] 서열번호 5510 및 11179-11180은 상기 MG22 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG22 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0253] 서열번호 5474는 MG22 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0254] 서열번호 5586은 MG22 계열 효소에 대한 대장균 코돈-최적화된 암호화 서열에 대한 뉴클레오티드 서열을 보여준

다.

[0255] 서열번호 5694-5699은 MG22 계열 효소의 특징적인 펩티드 서열을 나타낸다.

[0256] 서열번호 9952-9982는 MG22 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0257] 서열번호 11337-11344는 MG22 뉴클레아제의 표적 부위의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0258] **MG23**

[0259] 서열번호 1756-1826 및 7734-7735는 MG23 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0260] 서열번호 3569-3637은 상기 MG23 뉴클레아제의 RuvC_III 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0261] 서열번호 5390-5460은 상기 MG23 뉴클레아제의 HNH 도메인의 펩티드를 보여준다.

[0262] 서열번호 5511 및 11181-11182는 상기 MG23 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG23 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0263] 서열번호 5475 및 11140은 MG23 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0264] 서열번호 5587은 MG23 계열 효소에 대한 대장균 코돈-최적화된 암호화 서열에 대한 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0265] 서열번호 5700-5717은 MG23 계열 효소의 특징적인 펩티드 서열을 나타낸다.

[0266] 서열번호 9983-10004는 MG23 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0267] 서열번호 11345-11351은 MG23 뉴클레아제의 표적 부위의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0268] **MG24**

[0269] 서열번호 7736-8027은 MG24 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0270] 서열번호 10005-10162는 MG24 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0271] **MG25**

[0272] 서열번호 8028-8091은 MG25 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0273] 서열번호 10163-10211은 MG25 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0274] **MG38**

[0275] 서열번호 8092-8095는 MG38 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0276] 서열번호 10212-10214는 MG38 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0277] **MG40**

[0278] 서열번호 5718-5750 및 8096-8163은 MG40 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0279] 서열번호 5847-5852는 MG 40 뉴클레아제와 연관된 프로토스페이서 인접 모티프를 보여준다.

[0280] 서열번호 5862-5873은 MG40 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0281] 서열번호 10215-10263은 MG40 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0282] 서열번호 11183-11188은 상기 MG40 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG40 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0283] **MG41**

[0284] 서열번호 8164-8286은 MG41 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0285] 서열번호 10264-10304는 MG41 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0286] **MG42**

[0287] 서열번호 8287-8356은 MG42 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0288] 서열번호 10305-10355는 MG42 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0289] **MG43**

[0290] 서열번호 8357-8453은 MG43 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0291] 서열번호 10356-10412는 MG43 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0292] 서열번호 11117은 MG43 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0293] 서열번호 11141은 MG43 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0294] 서열번호 11189는 상기 MG43 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG43 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0295] **MG44**

[0296] 서열번호 8454-8496은 MG44 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0297] 서열번호 10413-10555는 MG44 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0298] 서열번호 11190은 상기 MG44 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG44 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0299] **MG46**

[0300] 서열번호 8497-8634는 MG46 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0301] 서열번호 10556-10633은 MG46 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0302] 서열번호 11191은 전술한 상기 MG46 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG46 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0303] **MG47**

[0304] 서열번호 5751-5768 및 8635-8664는 MG47 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0305] 서열번호 5853-5854는 MG47 뉴클레아제와 연관된 프로토스페이서 인접 모티프를 나타낸다.

[0306] 서열번호 5878-5881은 MG47 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0307] 서열번호 10634-10656은 MG47 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0308] 서열번호 11192-11193은 상기 MG47 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG47 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0309] **MG48**

[0310] 서열번호 5769-5804 및 8665는 MG48 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0311] 서열번호 5855-5856은 MG48 뉴클레아제와 연관된 프로토스페이서 인접 모티프를 나타낸다.

[0312] 서열번호 5886, 5890, 5893, 및 11194는 상기 MG48 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG48 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0313] 서열번호 5887, 5891 및 5894는 본원에 기술된 MG48 뉴클레아제와 연관된 CRISPR 반복을 나타낸다.

[0314] 서열번호 5888-5889, 5892 및 5895-5896은 MG48 뉴클레아제와 함께 기능하도록 설계된 추정 sgRNA를 나타낸다.

[0315] 서열번호 10657-10662는 MG48 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0316] 서열번호 11142-11143은 MG48 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0317] **MG49**

[0318] 서열번호 5805-5823 및 8666-8677은 MG49 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0319] 서열번호 5857-5858은 MG49 뉴클레아제와 연관된 프로토스페이서 인접 모티프를 나타낸다.

[0320] 서열번호 5862-5873은 MG40 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0321] 서열번호 5876-5877은 MG49 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0322] 서열번호 10663-10675는 MG49 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0323] 서열번호 11195-11196은 상기 MG49 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG49 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0324] **MG50**

[0325] 서열번호 5824-5826 및 8678-8682는 MG50 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0326] 서열번호 5859는 MG50 뉴클레아제와 연관된 프로토스페이서 인접 모티프를 나타낸다.

[0327] 서열번호 5884-5885는 MG50 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0328] 서열번호 10676-10682는 MG50 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0329] 서열번호 11197은 상기 MG50 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG50 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0330] **MG51**

[0331] 서열번호 5827-5830 및 8683-8705는 MG51 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0332] 서열번호 5860은 MG51 뉴클레아제와 연관된 프로토스페이서 인접 모티프를 나타낸다.

[0333] 서열번호 5882-5883은 MG51 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0334] 서열번호 10683-10704는 MG51 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0335] 서열번호 11198은 상기 MG51 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG51 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0336] **MG52**

[0337] 서열번호 5831-5846 및 8706은 MG52 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0338] 서열번호 5861은 MG52 뉴클레아제와 연관된 프로토스페이서 인접 모티프를 나타낸다.

[0339] 서열번호 5874-5875는 MG52 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0340] 서열번호 10705-10710은 MG52 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0341] 서열번호 11199는 상기 MG52 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG52 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0342] **MG71**

[0343] 서열번호 10711-10712는 MG71 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0344] 서열번호 11144-11145는 MG71 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0345] 서열번호 11200-11201은 상기 MG71 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG71 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0346] **MG72**

[0347] 서열번호 11202는 상기 MG72 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG72 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0348] **MG73**

[0349] 서열번호 10713-10718은 MG73 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0350] 서열번호 11203-11204는 상기 MG73 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG73 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0351] **MG74**

[0352] 서열번호 10719-10732는 MG74 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0353] 서열번호 11205는 상기 MG74 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG74 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0354] **MG86**

[0355] 서열번호 8707-8737은 MG86 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0356] 서열번호 10733-10791은 MG86 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0357] 서열번호 11118은 MG86 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0358] 서열번호 11206-11207은 상기 MG86 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG86 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0359] **MG87**

[0360] 서열번호 8738-8747은 MG87 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0361] 서열번호 10792-10828은 MG87 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0362] 서열번호 11208-11210은 상기 MG87 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG87 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0363] **MG88**

[0364] 서열번호 10829-10841은 MG88 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0365] 서열번호 11211-11213은 상기 MG88 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG88 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0366] **MG89**

[0367] 서열번호 10842-10854는 MG89 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0368] 서열번호 11214-11215는 상기 MG89 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG89 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0369] **MG94**

[0370] 서열번호 8748-8781은 MG94 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0371] 서열번호 10855-10860은 MG94 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0372] 서열번호 11119-11120은 MG94 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0373] 서열번호 11146-11147은 MG94 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0374] 서열번호 11216-11217은 상기 MG94 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG94 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0375] **MG95**

[0376] 서열번호 8782-8785는 MG95 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0377] 서열번호 10861-10863은 MG95 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0378] 서열번호 11121-11122는 MG95 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0379] 서열번호 11148-11149는 MG95 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0380] 서열번호 11218-11219는 상기 MG95 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG95 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0381] **MG96**

[0382] 서열번호 8786-8814는 MG96 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0383] 서열번호 10864-10884는 MG96 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0384] 서열번호 11123은 MG96 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0385] 서열번호 11150은 MG96 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0386] 서열번호 11220은 상기 MG96 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG96 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0387] **MG97**

[0388] 서열번호 8815-8818은 MG97 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0389] 서열번호 10885-10887은 MG97 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0390] **MG98**

[0391] 서열번호 8819-8959는 MG98 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0392] 서열번호 10888-10936은 MG98 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0393] 서열번호 11124-11125는 MG98 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0394] 서열번호 11151-11152는 MG98 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0395] 서열번호 11221-11222는 상기 MG98 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG98 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0396] **MG99**

[0397] 서열번호 11153은 MG99 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0398] 서열번호 11223은 상기 MG99 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG99 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0399] **MG100**

[0400] 서열번호 8960-9036은 MG100 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0401] 서열번호 10937-10991은 MG100 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0402] 서열번호 11126은 MG100 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0403] 서열번호 11154-11155는 MG100 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0404] 서열번호 11224-11225는 상기 MG100 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG100 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0405] **MG111**

[0406] 서열번호 9037-9126은 MG111 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0407] 서열번호 10992-11046은 MG111 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0408] 서열번호 11127-11128은 MG111 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0409] 서열번호 11156-11157은 MG111 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0410] 서열번호 11226-11227은 상기 MG111 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG111 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0411] **MG112**

[0412] 서열번호 9127-9149는 MG112 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0413] 서열번호 11047-11062는 MG112 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0414] **MG116**

[0415] 서열번호 9150-9191은 MG116 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0416] 서열번호 11063-11098은 MG116 뉴클레아제의 PAM-상호작용 도메인의 펩티드 서열을 나타낸다.

[0417] 서열번호 11129는 MG116 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0418] 서열번호 11158은 MG116 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0419] 서열번호 11228은 상기 MG116 뉴클레아제와 동일한 유전자좌로부터 유래된 MG116 tracrRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0420] **MG123**

[0421] 서열번호 11617-11624는 MG123 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0422] 서열번호 11518은 MG123 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0423] 서열번호 11555는 MG123 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0424] **MG124**

[0425] 서열번호 11625-11626은 MG124 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0426] 서열번호 11519는 MG124 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0427] 서열번호 11556은 MG124 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0428] **MG125**

[0429] 서열번호 11627-11707은 MG125 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0430] 서열번호 11520-11524는 MG125 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0431] 서열번호 11557-11561은 MG125 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0432] **MG150**

[0433] 서열번호 7359-7368 및 11708-11710은 MG150 뉴클레아제의 전장 펩티드 서열을 나타낸다.

[0434] 서열번호 11525-11529는 MG150 뉴클레아제의 단일 가이드 PAM의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0435] 서열번호 11562-11566은 MG150 뉴클레아제와 함께 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0436] **B2M 표적화**

[0437] 서열번호 6305-6386은 B2M을 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0438] 서열번호 6387-6468은 B2M 표적 부위의 DNA 서열을 보여준다.

[0439] **TRAC 표적화**

[0440] 서열번호 6469-6508 및 6804는 TRAC를 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0441] 서열번호 6509-6548 및 6805는 TRAC 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0442] **HPRT 표적화**

[0443] 서열번호 6549-6615는 HPRT를 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0444] 서열번호 6616-6682는 HPRT 표적 부위의 DNA 서열을 보여준다.

[0445] **MG3-6 TRBC1/2 표적화**

[0446] 서열번호 6683-6721은 TRBC1/2를 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드

서열을 보여준다.

[0447] 서열번호 6722-6760은 TRBC1/2 표적 부위의 DNA 서열을 보여준다.

[0448] **MG3-8 TRBC1/2 표적화**

[0449] 서열번호 6761-6781은 TRBC1/2를 표적화하기 위해 MG3-8 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0450] 서열번호 6782-6802는 TRBC1/2 표적 부위의 DNA 서열을 보여준다.

[0451] **MG3-6 CD2 표적화**

[0452] 서열번호 6811-6852는 CD2를 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0453] 서열번호 6853-6894는 CD2 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0454] **MG3-6 CD5 표적화**

[0455] 서열번호 6895-6958은 CD5를 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0456] 서열번호 6959-7022는 CD5 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0457] **MG3-6 FAS 표적화**

[0458] 서열번호 7023-7056은 FAS를 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0459] 서열번호 7057-7090은 FAS 표적 부위의 DNA 서열을 보여준다.

[0460] **MG3-6 PD-1 표적화**

[0461] 서열번호 7091-7128은 PD-1을 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0462] 서열번호 7129-7166은 PD-1 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0463] **MG3-6 hRosa26 표적화**

[0464] 서열번호 7167-7198은 hRosa26을 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0465] 서열번호 7199-7230은 hRosa26 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0466] **MG21-1 TRAC 표적화**

[0467] 서열번호 7231-7234는 TRAC를 표적화하기 위해 MG21-1 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0468] 서열번호 7235-7238은 TRAC 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0469] **MG23-1 TRAC 표적화**

[0470] 서열번호 7239-7247은 TRAC를 표적화하기 위해 MG23-1 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0471] 서열번호 7248-7256은 TRAC 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0472] **MG14-241 AAVS1 표적화**

[0473] 서열번호 11508-11510은 AAVS1을 표적화하기 위해 MG14-241 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0474] 서열번호 11511-11513은 AAVS1 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0475] **MG23-1 AAVS1 표적화**

[0476] 서열번호 7257-7260은 AAVS1을 표적화하기 위해 MG23-1 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0477] 서열번호 7261-7264는 AAVS1 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0478] **MG71-2 AAVS1 표적화**

[0479] 서열번호 7265-7266은 AAVS1을 표적화하기 위해 MG71-2 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0480] 서열번호 7267-7268은 AAVS1 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0481] **MG73-1 TRAC 표적화**

[0482] 서열번호 7269는 TRAC를 표적화하기 위해 MG73-1 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0483] 서열번호 7270은 TRAC 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0484] **MG89-2 TRAC 표적화**

[0485] 서열번호 7271-7277은 TRAC를 표적화하기 위해 MG89-2 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0486] 서열번호 7278-7284는 TRAC 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0487] **MG99-1 TRAC 표적화**

[0488] 서열번호 11514-11515는 TRAC를 표적화하기 위해 MG99-1 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0489] 서열번호 11516-11517은 TRAC 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0490] **MG3-6 인간 HAO-1 표적화**

[0491] 서열번호 11352-11372은 인간 HAO-1을 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 보여준다.

[0492] **MG3-6 인간 GPR146 표적화**

[0493] 서열번호 11374-11405는 인간 GPR146을 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0494] 서열번호 11406-11437은 인간 GPR146 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0495] **MG3-6 마우스 GPR146 표적화**

[0496] 서열번호 11438-11472는 마우스 GPR146을 표적화하기 위해 MG3-6 뉴클레아제와 기능하도록 조작된 sgRNA의 뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

[0497] 서열번호 11473-11507은 마우스 GPR146 표적 부위의 DNA 서열을 나타낸다.

[0498] **발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0499] 본 발명의 다양한 실시예가 본원에 도시되고 기술되었지만, 이러한 실시예는 단지 예시로서 제공된다는 것은 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명을 벗어나지 않고도 많은 변이, 변화, 및 치환이 당업자에게 일어날 수 있다. 본원에 기술된 본 발명의 실시예에 대한 다양한 대안이 사용될 수 있음을 이해해야 한다.

[0500] 달리 명시되지 않는 한, 본원에 개시된 일부 방법을 실시하는 데에는 면역학, 생화학, 화학, 분자 생물학, 미생물학, 세포 생물학, 게놈, 및 재조합 DNA의 기술이 사용된다. 예를 들어 Sambrook 및 Green, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th Edition (2012); the series Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel 등(편); the series Methods In Enzymology (Academic Press, Inc.), PCR 2: A Practical Approach (M.J. MacPherson, B.D. Hames 및 G.R. Taylor(편) (1995)), Harlow and Lane(편) (1988)

Antibodies, A Laboratory Manual, 및 Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications, 6th Edition (R.I. Freshney(편) (2010))을 참조한다(이들은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).

[0501] 본원에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태("a", "an" 및 "the")는 문맥상 달리 명시되지 않는 한, 복수 형태도 포함하도록 의도된다. 또한, 용어 "포함하는(including, includes, having, has, with)" 또는 이의 변형된 표현이 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용 및/또는 청구범위에 사용되는 정도까지, 이러한 용어는 용어 "포함하는(comprising)"과 유사한 방식으로 포괄적인 것으로 의도된다.

[0502] 용어 "약" 또는 "대략"은 당업자에 의해 결정되는 특정 값에 대한 허용 가능한 오차 범위 내의 것을 의미하며, 이는 값이 측정되거나 결정되는 방법, 즉, 측정 시스템의 한계에 부분적으로 좌우될 것이다. 예를 들어, "약"은 당 기술분야의 관행에 따라 하나 또는 둘 이상의 표준 편차 이내를 의미할 수 있다. 대안적으로, "약"은 주어진 값의 최대 20%, 최대 15%, 최대 10%, 최대 5%, 또는 최대 1%의 범위를 의미할 수 있다.

[0503] 본원에서 사용되는 바와 같이, "세포"는 일반적으로 생물학적 세포를 지칭한다. 세포는 살아있는 유기체의 기본 구조, 기능, 또는 생물학적 단위일 수 있다. 세포는 하나 이상의 세포를 갖는 임의의 유기체로부터 유래될 수 있다. 일부 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 원핵 세포, 진핵 세포, 박테리아 세포, 고세균 세포, 단세포 진핵생물의 세포, 원생동물 세포, 식물 유래의 세포(예를 들어, 식물 작물, 과일, 야채, 곡물, 대두, 옥수수(corn), 옥수수(maize), 밀, 씨앗, 토마토, 쌀, 카사바, 사탕수수, 호박, 건초, 감자, 면, 대마, 담배, 개화 식물, 침엽수, 겉씨식물, 양치류, 석송, 뿔이끼류, 우산이끼, 이끼 유래의 세포), 해조류 세포(예를 들어, 보트리오코커스 브라우니(Botryococcus braunii), 녹조류(Chlamydomonas reinhardtii), 클라미도모나스 라인하르트티, 나노클로롭시스 가디타나(Nannochloropsis gaditana), 클로렐라 피레노이도사(Chlorella pyrenoidosa), 쌍발이모자반(Sargassum patens C. Agardh) 등), 해초(예를 들어, 켈프), 진균 세포(예를 들어, 효모 세포, 버섯 유래의 세포), 동물 세포, 무척추 동물(예를 들어, 초파리, 자포류, 극피동물, 선충 등) 유래의 세포. 척추동물(예를 들어, 생선, 양서류, 파충류, 새, 포유동물) 유래의 세포, 포유동물(예를 들어, 돼지, 젖소, 염소, 양, 설치류, 랫트, 마우스, 비인간 영장류, 인간 등) 유래의 세포, 등. 때로는, 세포는 천연 유기체로부터 유래되지 않는다(예를 들어, 세포는 합성으로 만들어질 수 있고, 이는 가끔 인공 세포라 불린다).

[0504] 본원에서 사용되는 용어 "뉴클레오티드"는 일반적으로 염기-당-인산염의 조합을 지칭한다. 뉴클레오티드는 합성 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 뉴클레오티드는 합성 뉴클레오티드 유사체를 포함할 수 있다. 뉴클레오티드는 핵산 서열(예를 들어, 데옥시리보핵산(DNA) 및 리보핵산(RNA))의 단량체 단위일 수 있다. 뉴클레오티드라는 용어는 리보뉴클레오시드 삼인산, 아데노신 삼인산(ATP), 우리딘 삼인산(UTP), 시토신 삼인산(CTP), 구아노신 삼인산(GTP), 및 데옥시리보뉴클레오시드 삼인산, 예컨대 dATP, dCTP, dITP, dUTP, dGTP, dTTP, 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. 이러한 유도체는, 예를 들어, [αS]dATP, 7-데아자-dGTP 및 7-데아자-dATP, 및 이를 함유하는 핵산 분자에 뉴클레아제 저항성을 부여하는 뉴클레오티드 유도체를 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 뉴클레오티드는 디데옥시리보뉴클레오시드 삼인산(ddNTP) 및 이들의 유도체를 지칭할 수 있다. 디데옥시리보뉴클레오시드 삼인산의 예시적인 예는 ddATP, ddCTP, ddGTP, ddITP, 및 ddTTP를 포함할 수 있지만, 이에 한정되지는 않는다. 뉴클레오티드는 표지되지 않거나, 예컨대 광학적으로 검출 가능한 모이어티(예를 들어, 형광단)를 포함하는 모이어티를 사용하여 검출 가능하게 표지될 수 있다. 표지화는 양자점(quantum dots)으로 수행될 수도 있다. 검출 가능한 표지는, 예를 들어, 방사성 동위원소, 형광 표지, 화학발광 표지, 생물발광 표지, 및 효소 표지를 포함할 수 있다. 뉴클레오티드의 형광 표지는 플루오레세인, 5-카르복시플루오레세인(FAM), 2'7'-디메톡시-4'5-디클로로-6-카르복시플루오레세인(JOE), 로다민, 6-카르복시로다민(R6G), N,N,N′,N′-테트라메틸-6-카르복시로다민(TAMRA), 6-카르복시-X-로다민(ROX), 4-(4′ 디메틸아미노페닐아조) 벤조산(DABCYL), 캐스케이드 블루(Cascade Blue), 오레곤 그린(Oregon Green), 텍사스 레드(Texas Red), 사아닌, 및 5-(2′-아미노에틸)아미노나프탈렌-1-설폰산(EDANS)를 포함할 수 있지만 이에 한정되지는 않는다. 형광 표지된 뉴클레오티드의 특정 예는 다음을 포함할 수 있다: Perkin Elmer(Foster City, Calif)로부터 입수할 수 있는 [R6G]dUTP, [TAMRA]dUTP, [R110]dCTP, [R6G]dCTP, [TAMRA]dCTP, [JOE]ddATP, [R6G]ddATP, [FAM]ddCTP, [R110]ddCTP, [TAMRA]ddGTP, [ROX]ddTTP, [dR6G]ddATP, [dR110]ddCTP, [dTAMRA]ddGTP, 및 [dROX]ddTTP; Amersham(Arlington Heights, Ill.)으로부터 입수할 수 있는 FluoroLink 데옥시뉴클레오티드, FluoroLink Cy3-dCTP, FluoroLink Cy5-dCTP, FluoroLink 플루오르 X-dCTP, FluoroLink Cy3-dUTP, 및 FluoroLink Cy5-dUTP; Boehringer Mannheim(Indianapolis, Ind.)으로부터 입수할 수 있는 플루오레세인-15-dATP, 플루오레세인-12-dUTP, 테트라메틸-로다민-6-dUTP, IR770-9-dATP, 플루오레세인-12-ddUTP, 플루오레세인-12-UTP, 및 플루오레세인-15-2′-dATP; 및 Molecular Probes(Eugene, Oreg.)로부터 입수할 수 있는 염색체 표지된 뉴클레오티드,

BODIPY-FL-14-UTP, BODIPY-FL-4-UTP, BODIPY-TMR-14-UTP, BODIPY-TMR-14-dUTP, BODIPY-TR-14-UTP, BODIPY-TR-14-dUTP, 캐스케이드 블루-7-UTP, 캐스케이드 블루-7-dUTP, 플루오레세인-12-UTP, 플루오레세인-12-dUTP, 오레곤 그린 488-5-dUTP, 로다민 그린-5-UTP, 로다민 그린-5-dUTP, 테트라메틸로다민-6-UTP, 테트라메틸로다민-6-dUTP, 텍사스 레드-5-UTP, 텍사스 레드-5-dUTP, 및 텍사스 레드-12-dUTP. 뉴클레오티드는 화학적 변형에 의해 표지되거나 표시될 수도 있다. 화학적으로 변형된 단일 뉴클레오티드는 비오틴-dNTP일 수 있다. 비오틴화된 dNTP의 일부 비제한적인 예는 다음을 포함할 수 있다: 비오틴-dATP(예를 들어, 비오-N6-ddATP, 비오틴-14-dATP), 비오틴-dCTP(예를 들어, 비오틴-11-dCTP, 비오틴-14-dCTP), 및 비오틴-dUTP(예를 들어, 비오틴-11-dUTP, 비오틴-16-dUTP, 비오틴-20-dUTP).

[0505] 용어 "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드", 및 "핵산"은 일반적으로 임의의 길이를 가진 뉴클로에티드의 중합체 형태를 지칭하도록 사용 교환적으로 사용되며, 상기 뉴클레오티드는 단일 가닥, 이중 가닥, 또는 다중 가닥의 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드이거나, 이의 유사체일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 세포에 대해 외인성이거나 내인성일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 무세포 환경에서 존재할 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 유전자이거나 이의 단편일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 DNA일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 RNA일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 임의의 3차원 구조를 가질 수 있고 임의의 기능을 수행할 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 유사체(예를 들어, 백본, 당, 또는 핵염기가 변경된 유사체)를 포함할 수 있다. 존재하는 경우, 뉴클레오티드 구조에 대한 변형은 중합체의 조립 전 또는 후에 부여될 수 있다. 유사체의 일부 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 5-브로모우라실, 펩티드 핵산, 제노 핵산(xeno nucleic acid), 모르폴리노, 잠금 핵산, 글리콜 핵산, 트레오스 핵산, 디데옥시뉴클레오티드, 코르디세핀, 7-데아자-GTP, 형광단 (예를 들어, 당류에 연결된 로다민 또는 플루오레세인), 티올 함유 뉴클레오티드, 비오틴 연결된 뉴클레오티드, 형광 염기 유사체, CpG 섬, 메틸-7-구아노신, 메틸화된 뉴클레오티드, 이노신, 티오우리딘, 슈도우리딘, 디하이드로우리딘, 큐오신, 및 와이오신. 폴리뉴클레오티드의 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 유전자 또는 유전자 단편의 코딩 또는 비-코딩 영역, 연결 분석으로부터 정의된 유전자좌/유전자좌들, 엑손, 인트론, 메신저 RNA(mRNA), 전달 RNA(tRNA), 리보솜 RNA (rRNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 마이크로-RNA (miRNA), 리보자임, cDNA, 재조합 폴리뉴클레오티드, 분지형 폴리뉴클레오티드, 플라스미드, 벡터, 임의의 서열의 단리된 DNA, 임의의 서열의 단리된 RNA, 무세포 DNA(cfDNA) 및 무세포 RNA(cfRNA)를 포함하는 무세포 폴리뉴클레오티드, 핵산 프로브, 및 프라이머. 뉴클레오티드의 서열은 비-뉴클레오티드 성분에 의해 중단될 수 있다.

[0506] 용어 "형질감염(transfection 또는 transfected)"은 일반적으로 비-바이러스적인 방법 또는 바이러스-기반 방법에 의해 핵산을 세포 내로 도입하는 것을 지칭한다. 핵산 분자는 완전한 단백질 또는 이의 기능적 부분을 암호화하는 유전자 서열일 수 있다. 예를 들어, Sambrook 등의 문헌[1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 18.1-18.88] 참조.

[0507] 용어 "펩티드", "폴리펩티드", 및 "단백질"은 일반적으로 펩티드 결합(들)에 의해 결합된 적어도 2개의 아미노산 잔기로 이루어진 중합체를 지칭하도록 본원에서 상호 교환적으로 사용된다. 이 용어는 중합체의 특정 길이를 의미하지 않으며, 펩티드가 재조합 기술, 화학적 또는 효소적 합성을 사용해 생산되는지 또는 자연적으로 발생하는지를 암시하거나 구별하도록 의도되지도 않는다. 상기 용어는 자연적으로 발생하는 아미노산 중합체뿐만 아니라 적어도 하나의 변형된 아미노산을 포함하는 아미노산 중합체에도 적용된다. 일부 경우에, 중합체는 비-아미노산에 의해 중단될 수 있다. 상기 용어는 전장 단백질을 포함하는 임의의 길이의 아미노산 사슬, 및 2차 또는 3차 구조(예를 들어, 도메인)가 있거나 없는 단백질을 포함한다. 상기 용어는 예를 들어, 이황화 결합 형성, 당질화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 산화, 및 표지 성분과의 접합과 같은 임의의 다른 조작에 의해 변형된 아미노산 중합체도 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 "아미노산(들)"은, 변형된 아미노산 및 아미노산 유사체를 포함하되 이에 한정되지 않는, 천연 및 비-천연 아미노산을 일반적으로 지칭한다. 변형된 아미노산은, 아미노산 상에는 자연적으로 존재하지 않는 기 또는 화학적 모이어티를 포함하도록 화학적으로 변형된 천연 아미노산 및 비-천연 아미노산을 포함할 수 있다. 아미노산 유사체는 아미노산 유도체를 지칭할 수 있다. 용어 "아미노산"은 D-아미노산 및 L-아미노산 둘 모두를 포함한다.

[0508] 본원에서 사용되는 바와 같이, "비-고유(non-native)"는 고유 핵산 또는 단백질에서 발견되지 않는 핵산 또는 폴리펩티드 서열을 일반적으로 지칭할 수 있다. 비-고유는 친화도 태그를 지칭할 수 있다. 비-고유는 융합을 지칭할 수 있다. 비-고유는 돌연변이, 삽입, 또는 결실을 포함하는 자연 발생 핵산 또는 폴리펩티드 서열을 지칭할 수 있다. 비-고유 서열은 비-고유 서열이 융합되는 핵산 또는 폴리펩티드 서열에 의해서도 나타날 수 있는 활성(예를 들어, 효소 활성, 금속전이효소 활성, 아세틸전이효소 활성, 키나아제 활성, 유비퀴틴화 활성 등)을

나타내거나 이를 암호화할 수 있다. 비-고유 핵산 또는 폴리펩티드 서열은 유전자 조작에 의해 자연 발생 핵산 또는 폴리펩티드 서열(또는 이의 변이체)에 연결되어 키메라 핵산 또는 폴리펩티드를 암호화하는 키메라 핵산 또는 폴리펩티드 서열을 생성할 수 있다.

[0509] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "프로모터"는, 유전자의 전사 또는 발현을 조절하고 RNA 전사가 개시되는 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드의 영역에 인접하게 위치하거나 이와 중첩될 수 있는 조절 DNA 영역을 일반적으로 지칭한다. 프로모터는 종종 전사 인자로서 지칭되는 단백질 인자에 결합하는 특이적 DNA 서열을 함유할 수 있는데, 상기 인자는 RNA 중합효소가 DNA에 결합하는 것을 용이하게 하여 유전자 전사를 유도한다. '코어 프로모터'로도 지칭되는 '기저 프로모터(basal promoter)'는 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드의 전사 발현을 촉진하는 모든 기본 요소를 함유하는 프로모터를 일반적으로 지칭할 수 있다. 진핵생물 기저 프로모터는 종종 TATA-박스 및/또는 CAAT 박스를 함유한다.

[0510] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "발현"은 핵산 서열 또는 폴리뉴클레오티드가 DNA 템플릿으로부터 (예컨대 mRNA 또는 다른 RNA 전사체로) 전사되는 공정 또는 전사된 mRNA가 후속하여 펩티드, 폴리펩티드, 또는 단백질로 번역되는 공정을 일반적으로 지칭한다. 전사체 및 암호화된 폴리펩티드는 "유전자 산물"로서 통칭될 수 있다. 폴리뉴클레오티드가 게놈 DNA로부터 유래되는 경우, 발현은 진핵 세포에서 mRNA의 스플라이싱을 포함할 수 있다.

[0511] 본원에서 사용되는 바와 같이, "작동 가능하게 연결된(operably linked, operable linkage, operatively linked)" 또는 이와 문법적으로 동등한 표현은 유전자 요소, 예를 들어, 프로모터, 인핸서, 폴리아데닐화 서열 등의 병치를 일반적으로 지칭하는데, 여기서 요소들은 이들이 예상된 방식으로 작동하도록 허용하는 관계에 있다. 예를 들어, 프로모터 또는 인핸서 서열을 포함할 수 있는 조절 요소가 암호화 서열의 전사 개시에 도움을 주는 경우, 조절 요소는 코딩 영역에 작동 가능하게 연결된다. 이러한 기능적 관계가 유지되는 한, 조절 요소와 코딩 영역 사이에 개재 잔기가 있을 수 있다.

[0512] 본원에서 사용되는 바와 같이, "벡터"는 일반적으로 폴리뉴클레오티드를 포함하거나 폴리뉴클레오티드와 결합하고 폴리뉴클레오티드를 세포로 전달하는 것을 매개하는데 사용될 수 있는 거대분자 또는 거대분자의 연관을 지칭한다. 벡터의 예는 플라스미드, 바이러스 벡터, 리포좀, 및 기타 유전자 전달 비히클을 포함한다. 벡터는 유전자에 작동 가능하게 연결되어 표적에서 유전자의 발현을 용이하게 하는 유전자 요소, 예를 들어 조절 요소를 일반적으로 포함한다.

[0513] 본원에서 사용되는 바와 같이, "발현 카세트" 및 "핵산 카세트"는 함께 발현되거나 발현을 위해 작동 가능하게 연결된 핵산 서열 또는 요소의 조합을 지칭하기 위해 일반적으로 상호 교환적으로 사용된다. 일부 경우에, 발현 카세트는 조절 요소와 발현을 위해 조절 요소가 작동 가능하게 연결되는 유전자(들)의 조합을 지칭한다.

[0514] DNA 또는 단백질 서열의 "기능적 단편"은 전장 DNA 또는 단백질 서열의 생물학적 활성과 실질적으로 유사한 생물학적 활성(기능적 또는 구조적 활성)을 보유하는 단편을 일반적으로 지칭한다. DNA 서열의 생물학적 활성은 전장 서열에 기인한 방식으로 발현에 영향을 미치는 이의 능력일 수 있다.

[0515] 본원에서 사용되는 바와 같이, "조작된" 객체란 객체가 인간 개입에 의해 변형되었음을 일반적으로 나타낸다. 비제한적인 실시예에 따르면: 핵산은 이의 서열을 자연에서 발생하지 않는 서열로 변경함으로써 변형될 수 있고; 핵산은 이 핵산을 자연에서 연관되지 않는 핵산과 결합시키되, 결합 산물이 원래 핵산에 존재하지 않는 기능을 갖도록 결합시킴으로써 변형될 수 있고; 조작된 핵산은 자연에서 존재하지 않는 서열을 이용해 시험관 내에서 합성될 수 있고; 단백질은 이의 아미노산 서열을 자연에서 존재하지 않는 서열과 치환함으로써 변형될 수 있고; 조작된 단백질은 새로운 기능 또는 특성을 획득할 수 있다. "조작된" 시스템은 적어도 하나의 조작된 구성요소를 포함한다.

[0516] 본원에서 사용되는 바와 같이, "합성" 및 "인공"은 자연 발생 인간 단백질과 낮은 서열 동일성(예를 들어, 50% 미만의 서열 동일성, 25% 미만의 서열 동일성, 10% 미만의 서열 동일성, 5% 미만의 서열 동일성, 1% 미만의 서열 동일성)을 갖는 단백질 또는 이의 도메인을 지칭하도록 상호 교환적으로 사용된다. 예를 들어, VPR 및 VP64 도메인은 합성 전사 활성화 도메인이다.

[0517] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "tracrRNA" 또는 "tracr 서열"은 예시적인 야생형 tracrRNA 서열(예를 들어 화농성연쇄상구균, 황색포도상구균 등 유래의 tracrRNA, 또는 서열번호 5476-5511)과 적어도 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 100% 서열 동일성 또는 서열 유사성을 갖는 핵산을 일반적으로 지칭할 수 있다. tracrRNA는 예시적인 야생형 tracrRNA 서열(예를 들어 화농성연쇄상구균, 황색포도상구

균 등 유래의 tracrRNA)과 최대 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 100% 서열 동일성 또는 서열 유사성을 갖는 핵산을 일반적으로 지칭할 수 있다. tracrRNA는 tracrRNA의 변형된 형태로서, 결실, 삽입, 또는 치환과 같은 뉴클레오티드 변화, 변이체, 돌연변이, 또는 키메라를 포함할 수 있는 형태를 지칭할 수 있다. tracrRNA는 적어도 6개의 연속 뉴클레오티드의 길이에 걸쳐 야생형 예시적인 tracrRNA(예를 들어, 화농성연쇄상구균, 황색포도상구균 등의 tracrRNA) 서열과 적어도 약 60% 동일할 수 있는 핵산을 지칭할 수 있다. 예를 들어, tracrRNA 서열은 적어도 6개의 연속 뉴클레오티드의 길이에 걸쳐 야생형 예시적인 tracrRNA(예를 들어, 화농성연쇄상구균, 황색포도상구균 등의 tracrRNA) 서열과 적어도 약 60% 동일하거나, 적어도 약 65% 동일하거나, 적어도 약 70% 동일하거나, 적어도 약 75% 동일하거나, 적어도 약 80% 동일하거나, 적어도 약 85% 동일하거나, 적어도 약 90% 동일하거나, 적어도 약 95% 동일하거나, 적어도 약 98% 동일하거나, 적어도 약 99% 동일하거나, 적어도 약 100% 동일할 수 있다. II형 tracrRNA 서열은 인접한 CRISPR 어레이에서 반복 서열의 일부와 상보성을 갖는 영역을 식별함으로써 게놈 서열 상에서 예측될 수 있다.

[0518] 본원에서 사용되는 바와 같이, “가이드 핵산”은 다른 핵산에 혼성화될 수 있는 핵산을 일반적으로 지칭할 수 있다. 가이드 핵산은 RNA일 수 있다. 가이드 핵산은 DNA일 수 있다. 가이드 핵산은 핵산의 서열에 부위 특이적으로 결합하도록 프로그래밍될 수 있다. 표적화될 핵산 또는 표적 핵산은 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 가이드 핵산은 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 표적 핵산의 일부는 가이드 핵산의 일부에 상보적일 수 있다. 가이드 핵산에 상보적이고 가이드 핵산과 혼성화되는 이중-가닥 표적 폴리뉴클레오티드의 가닥은 상보적 가닥으로 지칭될 수 있다. 상보적 가닥에 상보적이고, 따라서 가이드 핵산에 상보적이 아닐 수 있는 이중 가닥 표적 폴리뉴클레오티드의 가닥은 비상보적 가닥으로 지칭될 수 있다. 가이드 핵산은 하나의 폴리뉴클레오티드 사슬을 포함할 수 있고 “단일 가이드 핵산”으로 지칭될 수 있다. 가이드 핵산은 2개의 폴리뉴클레오티드 사슬을 포함할 수 있고 “이중 가이드 핵산”으로 지칭될 수 있다. 달리 명시되지 않는 경우, 용어 “가이드 핵산”은 단일 가이드 핵산 및 이중 가이드 핵산 둘 다를 포함할 수 있고, 둘 다를 지칭할 수 있다. 가이드 핵산은 “핵산-표적화 분절” 또는 “핵산-표적화 서열”로서 지칭될 수 있는 분절을 포함할 수 있다. 핵산-표적화 분절은 “단백질-결합 분절” 또는 “단백질-결합 서열” 또는 “Cas 단백질-결합 분절”로서 지칭될 수 있는 하위 분절을 포함할 수 있다.

[0519] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 맥락에서의 용어 “서열 동일성” 또는 “동일성 백분율”은, 서열 비교 알고리즘을 사용해 측정했을 때, 부분적 또는 전체 비교 윈도우에 걸쳐 비교하고 최대 상응에 정렬했을 때 동일한 2개(예를 들어, 쌍으로 정렬했을 때) 또는 그 이상(예를 들어, 다수의 서열을 정렬했을 때)의 서열; 또는 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드의 특정 백분율을 갖는 2개(예를 들어, 쌍으로 정렬했을 때) 또는 그 이상(예를 들어, 다수의 서열을 정렬했을 때)의 서열을 일반적으로 지칭한다. 폴리펩티드 서열에 대한 적절한 서열 비교 알고리즘은 예를 들어 다음을 포함한다: 단어 길이(W) 3, 기대치(I) 10의 파라미터, 및 BLOSUM62 스코어링 매트릭스(존재 11, 연장 1의 갭 비용 설정)를 사용하고, 30개 잔기를 초과하는 길이의 폴리펩티드 서열에 대해서는 조건부 조성 스코어 매트릭스 조정(conditional compositional score matrix)을 사용하는 BLASTP; 단어 길이(W) 2, 기대치(E) 1000000의 파라미터, 및 30개 잔기 미만의 서열에 대해서는 PAM30 스코어링 매트릭스(개방 갭 9, 연장 갭 1의 갭 비용 설정 - 이들은 https://blast.ncbi.nlm.nih.gov에서 이용할 수 있는 BLAST 세트 중 BLASTP에 대한 디폴트 파라미터임)를 사용하는 BLASTP; CLUSTALW; 일치 2, 불일치 -1, 및 갭 -1의 파라미터를 사용하는 Smith-Waterman 상동성 검색 알고리즘; 디폴트 파라미터를 사용하는 MUSCLE; retree 2 및 최대 반복 1000의 파라미터를 사용하는 MAFFT; 디폴트 파라미터를 사용하는 Novafold; 디폴트 파라미터를 사용하는 HMMER hmmalign.

[0520] 하나 이상의 보존적 아미노산 치환을 갖는 본원에 기술된 효소 중 어느 하나의 변이체가 본 개시에 포함된다. 이러한 보존적 치환은 폴리펩티드의 3차원 구조 또는 기능을 파괴하지 않고도 폴리펩티드의 아미노산 서열에서 이루어질 수 있다. 보존적 치환은 소수성, 극성, 및 R 사슬 길이가 서로 유사한 아미노산들을 치환함으로써 달성될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 상이한 종의 상동성 단백질의 정렬된 서열을 비교함으로써, 종들 간에 돌연변이된 아미노산 잔기(예를 들어, 암호화된 단백질의 기본 기능을 변경시키지 않은 비보존적 잔기)를 위치시킴으로써 보존적 치환을 식별할 수 있다. 이러한 보존적으로 치환된 변이체는 본원에 기술된 엔도뉴클레아제 단백질 서열(예를 들어 MG1, MG2, MG3, MG3a, MG3b, MG4, MG5, MG6, MG7, MG14, MG15, MG16, MG17, MG18, MG21, MG22, MG23, MG24, MG25, MG38, MG40, MG41, MG42, MG43, MG44, MG46, MG47, MG48, MG49, MG50, MG51, MG52, MG71, MG72, MG73, MG74, MG86, MG87, MG88, MG89, MG94, MG95, MG96, MG97, MG98, MG99, MG100, MG111, MG112, MG116, MG123, MG124, MG125, 또는 본원에 기술된 MG150 계열 엔도뉴클레아제) 중 어느 하나와 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도

약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일성을 갖는 변이체를 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 이러한 보존적으로 치환된 변이체는 기능적 변이체이다. 이러한 기능적 변이체는 엔도뉴클레아제의 중요한 활성 부위 잔기의 활성이 파괴되지 않도록 치환된 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 본원에 기술된 단백질 중 어느 하나의 기능적 변이체는 적어도 하나의 보존된 잔기 또는 기능적 잔기의 치환이 결여되어 있다.

[0521] 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표는 다양한 참조 문헌을 통해 이용할 수 있다(예를 들어, Creighton의 문헌[단백질: Structures and Molecular Properties (W H Freeman &Co.; 2nd Edition (1993년 12월)] 참조). 다음의 8개의 기는 서로에 대해 보존적 치환인 아미노산을 각각 함유한다:

[0522] 1) 알라닌 (A), 글리신 (G);

[0523] 2) 아스파르트산 (D), 글루탐산 (E);

[0524] 3) 아스파라긴 (N), 글루타민 (Q);

[0525] 4) 아르기닌 (R), 리신 (K);

[0526] 5) 이소류신 (I), 류신 (L), 메티오닌 (M), 발린 (V);

[0527] 6) 페닐알라닌 (F), 티로신 (Y), 트립토판 (W);

[0528] 7) 세린 (S), 트레오닌 (T); 및

[0529] 8) 시스테인 (C), 메티오닌 (M)

[0530] 하나 이상의 치환을 갖는 본원에 기술된 핵산 서열 중 어느 하나의 변이체가 본 개시내용에 또한 포함된다. 이러한 변이체는 본원에 기술된 핵산 서열 중 어느 하나와 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 변이체를 포함할 수 있다.

[0531] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “RuvC_III 도메인”은 RuvC 엔도뉴클레아제 도메인의 세 번째 불연속 분절을 일반적으로 지칭한다(RuvC 뉴클레아제 도메인은 3개의 불연속 분절 RuvC_I, RuvC_II, 및 RuvC_III으로 구성됨). RuvC 도메인 또는 이의 분절은 문서화된 도메인 서열에 대한 정렬, 주석이 달린 도메인을 가진 단백질에 대한 구조 정렬, 또는 문서화된 도메인 서열(예를 들어, RuvC_III의 경우 Pfam HMM PF18541)에 기초하여 구축된 히든 마르코프 모델(Hidden Markov Models, HMM)과의 비교에 의해 일반적으로 식별될 수 있다.

[0532] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 “HNH 도메인”은 특징적인 히스티딘 및 아스파라긴 잔기를 갖는 엔도뉴클레아제 도메인을 일반적으로 지칭한다. HNH 도메인은 문서화된 도메인 서열에 대한 정렬, 주석이 달린 도메인을 가진 단백질에 대한 구조 정렬, 또는 문서화된 도메인 서열(예를 들어, 도메인 HNH의 경우 Pfam HMM PF01844)에 기초하여 구축된 히든 마르코프 모델(HMM)과의 비교에 의해 일반적으로 식별될 수 있다.

[0533] *개요*

[0534] 독특한 기능 및 구조를 갖는 새로운 Cas 효소의 발견은 데옥시리보핵산(DNA)을 추가로 파괴할 수 있는 편집 기술을 제공함으로써, 속도, 특이성, 기능, 및 사용 편이성을 개선할 수 있다. 미생물에서 CRISPR 시스템의 예측 유병률 및 미생물 종의 순수한 다양성과 관련하여, 기능적으로 특성화된 CRISPR/Cas 효소는 문헌에 상대적으로 거의 존재하지 않는다. 이는 부분적으로는 많은 수의 미생물 종이 실험실 조건에서 쉽게 배양되지 않을 수 있기 때문이다. 많은 수의 미생물 종을 나타내는 자연 환경 적소로부터의 메타게놈 시퀀싱은 문서화된 새로운 CRISPR/Cas 시스템의 수를 극적으로 증가시키고 새로운 올리고뉴클레오티드 편집 기능의 발견을 가속화할 수 있는 가능성을 제공할 수 있다. 이러한 접근법의 결실에 대한 최근의 예는 2016년에 천연 미생물 군집의 메타게놈 분석에서 CasX/CasY CRISPR 시스템을 발견한 것에 의해 입증된다.

[0535] CRISPR/Cas 시스템은 미생물에서 적응성 면역 체계로서 기능하는 것으로 기술된 RNA-지향성 뉴클레아제 복합체이다. 이들의 자연적인 맥락에서, CRISPR/Cas 시스템은 CRISPR(일정한 간격을 두고 주기적으로 분포하는 짧은 회문 반복서열) 오페론 또는 유전자좌에서 발생하며, 이는 일반적으로 2개의 부분을 포함한다: (i) RNA-기반 표적화 요소를 암호화하는, 동일하게 짧은 스페이서 서열에 의해 분리된 짧은 반복 서열(30 내지 40 bp)의 어레이; 및 (ii) 부속 단백질/효소와 함께 RNA-기반 표적화 요소가 지향하는 뉴클레아제 폴리펩티드를 암호화하

는 Cas를 암호화하는 ORF. 특정 표적 핵산 서열의 효율적인 뉴클레아제 표적화는 일반적으로 다음 두 가지 모두를 필요로 한다: (i) 표적의 첫 6~8개의 핵산(표적 시드)과 crRNA 가이드 사이의 상보적 혼성화; 및 (ii) 표적 시드의 정의된 근위 이내에 프로토스페이서-인접 모티프(PAM) 서열의 존재(PAM은 일반적으로 숙주 게놈 내에서 흔히 나타나지 않는 서열임). 시스템의 정확한 기능 및 구성에 따라, CRISPR-Cas 시스템은 공통의 기능적 특성 및 진화적 유사성을 기반으로 일반적으로 2개의 클래스, 5개의 유형, 및 16개의 하위 유형으로 구성된다.

[0536] 클래스 I CRISPR-Cas 시스템은 큰 다중 서브유닛 작동자 복합체를 가지며, I형, III형, 및 IV형을 포함한다.

[0537] I형 CRISPR-Cas 시스템은 구성요소의 측면에서 복잡성이 보통인 것으로 간주된다. I형 CRISPR-Cas 시스템에서, RNA-표적화 요소의 어레이는 긴 전구체 crRNA(pre-crRNA)로서 전사되고, 이는 반복 요소에서 가공되어 짧고 성숙한 crRNA를 유리시키는데, 이는 프로토스페이서-인접 모티프(PAM)로 불리는 적절한 짧은 컨센서스 서열이 뒤에 이어질 때 뉴클레아제 복합체를 핵산 표적에 대해 유도한다. 이러한 가공은 캐스케이드(Cascade)로 불리는 큰 엔도뉴클레아제 복합체의 엔도리보뉴클레아제 서브유닛(Cas6)을 통해 이루어지는데, 이는 crRNA-지향성 뉴클레아제 복합체의 뉴클레아제(Cas3) 단백질 성분도 포함한다. Cas I 뉴클레아제는 주로 DNA 뉴클레아제로서 기능한다.

[0538] III형 CRISPR 시스템은 Csm 또는 Cmr 단백질 서브유닛을 포함하는 반복체-결합된 신비한 단백질(RAMP)과 함께 Cas10으로 알려진 중심 뉴클레아제의 존재를 특징으로 할 수 있다. I형 시스템에서와 같이, 성숙한 crRNA는 Cas6-유사 효소를 사용하여 pre-crRNA로부터 가공된다. I형 및 II형 시스템과 달리, III형 시스템은 DNA-RNA 이중체(예컨대, RNA 중합효소에 대한 템플릿으로서 사용되는 DNA 가닥)를 표적화하고 절단하는 것으로 보인다.

[0539] IV형 CRISPR-Cas 시스템은 고도로 감소된 큰 서브유닛 뉴클레아제(csf1), Cas5(csf3) 및 Cas7(csf2)군으로 이루어진 RAMP 단백질에 대한 2개의 유전자, 및 일부 경우에, 예측된 작은 서브유닛에 대한 유전자로 이루어진 작동자 복합체를 가지는데; 이러한 시스템은 내인성 플라스미드 상에서 흔히 발견된다.

[0540] II형 CRISPR-Cas 시스템은 단일-폴리펩티드 다중도메인 뉴클레아제 작동자를 일반적으로 가지며, II형, V형, 및 VI형을 포함한다.

[0541] II형 CRISPR-Cas 시스템은 구성요소 측면에서 가장 단순한 것으로 간주된다. II형 CRISPR-Cas 시스템에서, CRISPR 어레이를 성숙한 crRNA로 가공하는 데에는 특별한 엔도뉴클레아제 서브유닛의 존재가 필요하지 않고, 오히려 어레이 반복 서열에 상보적인 영역을 갖는 작은 트랜스-암호화된 crRNA(tracrRNA)가 필요하며; 여기서 tracrRNA는 이의 상응하는 작동자 뉴클레아제(예를 들어, Cas9) 및 반복 서열 둘 다와 상호작용하여 전구체 dsRNA 구조를 형성하는데, 이는 내인성 RNAse III에 의해 절단되어 tracrRNA 및 crRNA 둘 다와 함께 로딩되는 성숙한 작동자 효소를 생성한다. Cas II 뉴클레아제는 DNA 뉴클레아제로서 알려져 있다. 2형 작동자는 RuvC-유사 뉴클레아제 도메인의 접힘부 내에 삽입된 무관한 HNH 뉴클레아제 도메인과 함께 RNase H 접힘부를 입양하는 RuvC-유사 엔도뉴클레아제 도메인으로 이루어진 구조를 일반적으로 나타낸다. RuvC-유사 도메인은 표적 (예를 들어, crRNA 상보적인) DNA 가닥의 절단을 담당하는 반면, HNH 도메인은 변위된 DNA 가닥의 절단을 담당한다.

[0542] V형 CRISPR-Cas 시스템은 II형 작동자의 구조와 유사하고, RuvC-유사 도메인을 포함하는 뉴클레아제 작동자(예를 들어, Cas 12) 구조를 특징으로 한다. II형과 유사하게, (전부는 아니지만) 대부분의 V형 CRISPR 시스템은 tracrRNA를 사용해 pre-crRNA를 성숙한 crRNA로 처리하지만; pre-crRNA를 다수의 crRNA로 절단하기 위해 RNAse III을 필요로 하는 II형 시스템과 달리, V형 시스템은 작동자 뉴클레아제 자체를 사용해 pre-crRNA를 절단할 수 있다. II형 CRISPR-Cas 시스템과 마찬가지로, V형 CRISPR-Cas 시스템도 DNA 뉴클레아제로서 알려져 있다. II형 CRISPR-Cas 시스템과 달리, 일부 V형 효소(예를 들어, Cas12a)는 이중 가닥 표적 서열의 제1 crRNA 가이드 절단에 의해 활성화되는 강력한 단일 가닥 비특이적 데옥시리보뉴클레아제 활성을 갖는 것으로 보인다.

[0543] VI형 CRIPSR-Cas 시스템은 RNA-가이드된 RNA 엔도뉴클레아제를 갖는다. RuvC-유사 도메인 대신에, VI형 시스템의 단일 폴리펩티드 작동자(예를 들어, Cas13)는 2개의 HEPN 리보뉴클레아제 도메인을 포함한다. II형 및 V형 시스템 둘 모두와 상이하게, VI형 시스템 또한 pre-crRNA를 crRNA로 가공하는 데 tracrRNA를 필요로 하지 않는 것으로 보인다. 그러나, V형 시스템과 유사하게, 일부 VI형 시스템(예를 들어, C2C2)은 표적 RNA의 제1 crRNA 유도 절단에 의해 활성화되는 강력한 단일-가닥 비특이적 뉴클레아제(리보뉴클레아제) 활성을 갖는 것으로 보인다.

[0544] 아키텍처가 더 단순하기 때문에, 클래스 II CRISPR-Cas는 설계자 뉴클레아제/게놈 편집 애플리케이션으로서 조작 및 개발에 가장 널리 채택되어 왔다.

[0545] 이러한 시스템을 시험관 내 용도로 초기에 도입한 것 중 하나는 Jinek 등의 문헌에서 확인할 수 있다 (문헌

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

[0546] 이후에, Mali 등은 (문헌[(Science. 2013 Feb 15; 339(6121): 823-826.), 동 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨) 다음을 암호화하는 DNA를 제공함으로써, 포유류 세포에 사용하기 위해 이 시스템을 채택하였다: (i) C-말단 핵 국소화 서열(예를 들어, SV40 NLS)을 갖는 적절한 포유류 프로모터 및 적절한 폴리아데닐화 신호(예를 들어, TK pA 신호) 하에 코돈-최적화된 Cas9(예를 들어, 클래스 II, II형 Cas 효소)를 암호화하는 ORF; 및 (ii) 적절한 중합효소 III 프로모터(예를 들어, U6 프로모터) 하에 sgRNA(G로 시작하는 5' 서열에 이어서, 3' tracr-결합 서열에 결합된 20 nt의 상보성 표적화 핵산 서열, 링커, 및 tracrRNA 서열을 갖는)를 암호화하는 ORF.

[0547] *MG 효소*

[0548] 일 측면에서, 본 개시내용은 메타게놈 시퀀싱을 통해 발견된 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공한다. 일부 경우에, 메타게놈 시퀀싱은 샘플에 대해 수행된다. 일부 경우에, 샘플은 다양한 환경으로부터 수집될 수 있다. 이러한 환경은 인간 마이크로바이옴, 동물 마이크로바이옴, 고온을 갖는 환경, 저온을 갖는 환경일 수 있다. 이러한 환경은 침전물을 포함할 수 있다.

[0549] *MG3 효소*

[0550] 일 측면에서, 본 개시내용은 (a) 엔도뉴클레아제를 포함하는 조작된 뉴클레아제 시스템을 제공한다. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 Cas 엔도뉴클레아제이다. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 II형, 클래스 II Cas 엔도뉴클레아제이다. 엔도뉴클레아제는 RuvC_III 도메인을 포함할 수 있으며, 여기서 상기 RuvC_III 도메인은 서열번호 2242-2251 중 어느 하나와 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는다. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 RuvC_III 도메인을 포함할 수 있으며, 여기서 RuvC_III 도메인은 서열번호 2242-2251 중 어느 하나와 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일성을 갖는다. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242-2251 중 어느 하나와 실질적으로 동일한 RuvC_III 도메인을 포함할 수 있다. 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242-2244 중 어느 하나와 적어도 약 70%의 서열 동일성을 갖는 RuvC_III 도메인을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242-2244 중 어느 하나와 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 동일성을 갖는 RuvC_III 도메인을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 서열번호 2242-2244 중 어느 하나와 실질적으로 동일한 RuvC_III 도메인을 포함할 수 있다.

[0551] 엔도뉴클레아제는 서열번호 4056-4066 중 어느 하나와 적어도 약 70%의 동일성을 갖는 HNH 도메인을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 서열번호 4056-4066 중 어느 하나와 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 HNH 도메인을 포함할 수 있다. 엔도뉴클레아제는 서열번호 4056-4066 중 어느 하나와 실질적으로 동일한 HNH 도메인을 포함할 수 있다. 엔도뉴클레아제는 서열번호 4056-4058 중 어느 하나와 적어도 약 70%의 동일성을 갖는 HNH 도메인을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 서열번호 4056-4058 중 어느 하나와 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일한 HNH 도메인을 포함할 수 있다. 엔도뉴클레아제는 서열번호 4056-4058 중 어느 하나와 실질적으로 동일한 HNH 도메인을 포함할

수 있다.

[0552] 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 변이체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-431 중 어느 하나와 실질적으로 동일할 수 있다. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-423 중 어느 하나와 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 변이체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 서열번호 421-423 중 어느 하나와 실질적으로 동일할 수 있다.

[0553] 일부 경우에, 엔도뉴클레아제는 하나 이상의 핵 국소화 서열(NLS)을 갖는 변이체를 포함할 수 있다. NLS는 전술한 엔도뉴클레아제의 N-말단 또는 C-말단에 근접할 수 있다. NLS는 서열번호 421-431 중 어느 하나, 또는 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 변이체에 부착된 N-말단 또는 C-말단일 수 있다. NLS는 SV40 거대 T 항원 NLS일 수 있다. NLS는 c-myc NLS일 수 있다. NLS는 서열번호 5593-5608 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. NLS는 서열번호 5593-5608 중 어느 하나와 실질적으로 동일한 서열을 포함할 수 있다.

[0554] 일부 경우에, 서열은 BLASTP, CLUSTALW, MUSCLE, MAFFT, Novafold, 또는 Smith-Waterman 상동성 검색 알고리즘 파라미터를 사용하는 CLUSTALW에 의해 결정될 수 있다. 서열 동일성은, 단어 길이(W) 3, 기대치(E) 10의 파라미터, 및 BLOSUM62 스코어링 매트릭스(존재 11, 연장 1의 갭 비용 설정)를 사용하고, 조건부 조성 스코어 매트릭스 조정을 사용하는, BLASTP 알고리즘에 의해 결정될 수 있다.

[0555] 일부 경우에, 상기 시스템은 (b) 원하는 절단 서열에 상보적인 5’ 표적화 영역을 갖는 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성할 수 있는 적어도 하나의 조작된 합성 가이드 리보핵산(sgRNA)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 5’ 표적화 영역은 엔도뉴클레아제와 양립 가능한 PAM 서열을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 표적화 영역의 5’ 가장 큰 뉴클레오티드는 G일 수 있다. 일부 경우에, 5’ 표적화 영역은 15-23개 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 가이드 서열 및 tracr 서열은 별도의 리보핵산(RNA) 또는 단일 리보핵산(RNA)으로서 공급될 수 있다. 가이드 RNA는 표적화 영역에 대해 3’ 에 있는 crRNA tracrRNA 결합 서열을 포함할 수 있다. 가이드 RNA는 crRNA tracrRNA 결합 영역에 대해 3’ 에 있는 4-뉴클레오티드 링커가 선행하는 tracrRNA 서열을 포함할 수 있다. sgRNA는, 5’ 에서 3’ 으로 세포에서 표적 서열에 혼성화할 수 있는 비천연 가이드 핵산 서열; 및 tracr 서열을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 비천연 가이드 핵산 서열 및 tracr 서열은 공유 결합된다.

[0556] 일부 경우에, tracr 서열은 특정 서열을 가질 수 있다. tracr 서열은 천연 tracrRNA 서열의 적어도 약 60-100개(예를 들어, 적어도 약 60, 적어도 약 65, 적어도 약 70, 적어도 약 75, 적어도 약 80, 적어도 약 85, 또는 적어도 약 90개)의 연속 뉴클레오티드와 적어도 약 80%를 가질 수 있다. tracr 서열은 서열번호 5495-5502 중 어느 하나의 적어도 약 60-100개(예를 들어, 적어도 약 60개, 적어도 약 65개, 적어도 약 70개, 적어도 약 75개, 적어도 약 80개, 적어도 약 85개, 또는 적어도 약 90개)의 연속 뉴클레오티드와 적어도 약 80%의 서열 동일성을 가질 수 있다. 일부 경우에, tracrRNA는 서열번호 5495-5502 중 어느 하나의 적어도 약 60-90개(예를 들어, 적어도 약 60, 적어도 약 65, 적어도 약 70, 적어도 약 75, 적어도 약 80, 적어도 약 85, 또는 적어도 약 90개)의 연속 뉴클레오티드와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 가질 수 있다. 일부 경우에, tracrRNA는 서열번호 5495-5502 중 어느 하나의 적어도 약 60-100개(예를 들어, 적어도 약 60, 적어도 약 65, 적어도 약 70, 적어도 약 75, 적어도 약 80, 적어도 약 85, 또는 적어도 약 90개)의 연속 뉴클레오티드와 실질적으로 동일할 수 있다. tracrRNA는 서열번호 5495-5502 중 어느 하나를 포함할 수 있다.

[0557] 일부 경우에, 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성할 수 있는 적어도 하나의 조작된 합성 가이드 리보핵산(sgRNA)은 서열번호 5466-5467 중 어느 하나와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. sgRNA는 서열번호 5466-5467 중 어느 하나와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적

어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. sgRNA는 서열번호 5466-5467 중 어느 하나와 실질적으로 동일한 서열을 포함할 수 있다.

[0558] 일부 경우에, 상기 시스템은 표적 DNA 유전자좌에서 절단을 위한 제1 영역 및 제2 영역을 표적화하는 2개의 상이한 sgRNA를 포함할 수 있으며, 여기서 제2 영역은 제1 영역에 대해 3' 에 있다. 일부 경우에는 상기 시스템은 5' 에서 3' 방향으로 다음을 포함하는 단일-가닥 또는 이중-가닥 DNA 복구 템플릿을 포함할 수 있다: 적어도 약 20개(예를 들어, 적어도 약 40, 80, 120, 150, 200, 300, 500, 또는 1kb)의 제1 영역에 대해 5' 에 있는 뉴클레오티드를 포함하는 제1 상동 아암, 적어도 약 10개의 뉴클레오티드의 합성 DNA 서열, 및 적어도 약 20개(예를 들어, 적어도 약 40, 80, 120, 150, 200, 300, 500, 또는 1kb)의 제2 영역에 대해 3' 에 있는 뉴클레오티드를 포함하는 제2 상동 아암.

[0559] 일 측면에서, 본 개시내용은 관심 표적 핵산 유전자좌를 변형시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 효소 및 본원에 개시된 적어도 하나의 합성 가이드 RNA(sgRNA)를 포함하여, 본원에 개시된 임의의 비-천연 시스템을 표적 핵산 유전자좌에 전달하는 단계를 포함할 수 있다. 효소는 적어도 하나의 sgRNA와 복합체를 형성할 수 있고, 관심 표적 핵산 유전자좌에 복합체가 결합할 때, 관심 표적 핵산 유전자좌를 변형시킬 수 있다. 효소를 상기 유전자좌에 전달하는 단계는 시스템 또는 상기 시스템을 암호화하는 핵산으로 세포를 형질감염시키는 단계를 포함할 수 있다. 뉴클레아제를 상기 유전자좌에 전달하는 단계는 시스템 또는 상기 시스템을 암호화하는 핵산으로 세포를 전기천공하는 단계를 포함할 수 있다. 뉴클레아제를 상기 유전자좌에 전달하는 단계는 관심 유전자좌를 포함하는 핵산과 함께 완충액에서 시스템을 인큐베이션하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 표적 핵산 유전자좌는 데옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA)을 포함한다. 일부 경우에, 표적 핵산은 게놈 DNA, 바이러스 DNA, 바이러스 RNA, 또는 박테리아 DNA를 포함할 수 있다. 표적 핵산 유전자좌는 세포 내에 있을 수 있다. 표적 핵산 유전자좌는 시험관 내일 수 있다. 표적 핵산 유전자좌는 진핵 세포 또는 원핵 세포 내에 있을 수 있다. 세포는 동물 세포, 인간 세포, 박테리아 세포, 고세균 세포, 또는 식물 세포일 수 있다. 효소는 관심 표적 유전자좌에서 또는 그 근위에서 단일 또는 이중-가닥 파괴를 유도할 수 있다.

[0560] 표적 핵산 유전자좌가 세포 내에 있을 수 있는 경우, 효소는 서열번호 2242-2251 중 어느 하나와 적어도 약 75%(예를 들어, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%) 동일성을 갖는 RuvC_III 도메인을 갖는 효소를 암후화하는 개방 해독 프레임을 함유하는 핵산으로서 공급될 수 있다. 상기 엔도뉴클레아제를 암호화하는 개방 해독 프레임을 함유하는 데옥시리보핵산(DNA)은 서열번호 5578-5580 또는 서열번호 5578-5580 중 어느 하나와 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 동일성을 갖는 변이체와 실질적으로 동일한 서열을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 핵산은 엔도뉴클레아제를 암호화하는 개방 해독 프레임이 작동 가능하게 연결되는 프로모터를 포함한다. 프로모터는 CMV, EF1a, SV40, PGK1, Ubc, 인간 베타 액틴, CAG, TRE, 또는 CaMKIIa 프로모터일 수 있다. 엔도뉴클레아제는 상기 엔도뉴클레아제를 암호화하는 상기 개방 해독 프레임을 함유하는 캡핑된 mRNA로서 공급될 수 있다. 엔도뉴클레아제는 번역된 폴리펩티드로서 공급될 수 있다. 적어도 하나의 조작된 sgRNA는 리보핵산(RNA) pol III 프로모터에 작동 가능하게 연결된 상기 적어도 하나의 조작된 sgRNA를 암호화하는 유전자 서열을 함유하는 데옥시리보핵산(DNA)으로서 공급될 수 있다. 일부 경우에, 유기체는 진핵생물일 수 있다. 일부 경우에, 유기체는 진균류일 수 있다. 일부 경우에, 유기체는 인간일 수 있다.

[0561] 본 개시내용의 시스템은, 예를 들어 핵산 편집(예를 들어, 유전자 편집), 핵산 분자에 대한 결합(예를 들어, 서열-특이적 결합)과 같은 다양한 응용에 사용될 수 있다. 이러한 시스템은, 예를 들어 대상체에서 질환을 유발할 수 있는 유전적으로 물려받은 돌연변이를 처리(예를 들어 제거 또는 치환)하는 데 사용될 수 있고, 세포에서 유전자의 기능을 확실하게 하기 위해 유전자를 불활성화시키는 데 사용될 수 있고, (예를 들어, 역-전사된 바이러스 RNA를 절단하거나 질환-유발 돌연변이를 암호화하는 증폭된 DNA 서열을 절단함으로써) 질환을 유발하는 유전적 요소를 검출하기 위한 진단 도구로서 사용될 수 있고, 특정 뉴클레오티드 서열(예를 들어, 박테리아에서 항생제 내 박테리아를 암호화하는 서열)을 표적화하고 검출하기 위한 프로브와 조합된 비활성화된 효소로서 사용될 수 있고, 바이러스 게놈을 표적화함으로써 바이러스를 불활성화시키거나 바이러스가 숙주 세포를 감염시킬 수 없게 하는 데 사용될 수 있고, 유전자를 추가하거나 대사 경로를 변경하여 유기체가 귀중한 소분자, 거대분자, 또는 이차 대사물을 생산하도록 이를 조작하는 데 사용될 수 있고, 진화적 선택을 위한 유전자 구동 요소를 확립하는 데 사용될 수 있고, 바이오센서로서 외래 소분자 및 뉴클레오티드에 의한 세포 섭동을 검출하는 데 사

용될 수 있다.

[0562] **예**

[0563] **예 1 - 신규 단백질에 대한 메타게놈 분석**

[0564] 퇴적물, 토양 및 동물로부터 메타게놈 샘플을 수집하였다. 데옥시리보핵산(DNA)을 Zymobiomics DNA 미니-분취 키트로 추출하고 Illumina HiSeq® 2500 상에서 시퀀싱하였다. 재산 소유자의 동의 하에 샘플을 수집하였다. 공개 소스로부터의 추가 원시 서열 데이터는 동물 미생물, 퇴전물, 토양, 온천, 열 벤트, 해양, 피트 보그, 퍼마프로스트, 및 하수 서열을 포함하였다. Cas 효과기를 식별하기 위해 II형 Cas 효과기 단백질을 포함하는 공지된 Cas 단백질 서열에 기초하여 생성된 Hidden Markov 모델을 사용하여 메타게놈 서열 데이터를 검색하였다. 검색에 의해 식별된 신규 효과기 단백질을 알려진 단백질과 정렬시켜 잠재적 활성 부위를 식별하였다. 이러한 메타게놈 워크플로우를 실행하여 본원에 기술된 클래스 II, II형 CRISPR 엔도뉴클레아제의 계통을 기술하였다.

[0565] **예 2 - (일반적인 프로토콜) 본원에 기술된 엔도뉴클레아제에 대한 PAM 서열 식별/확인**

[0566] PAM 서열은 *E. coli* 용해물-기반 발현 시스템(myTXTL, Arbor Biosciences)에서 발현된 추정 엔도뉴클레아제에 의해 절단될 수 있는 무작위로 생성된 PAM 서열을 함유하는 시퀀싱 플라스미드에 의해 결정하였다. 이러한 시스템에서, *E. coli* 코돈-최적화된 뉴클레오티드 서열을 T7 프로모터의 조절 하에 PCR 단편으로부터 전사하고 번역하였다. T7 프로모터 하에 tracr 서열을 갖는 제2 PCR 단편 및 T7 프로모터로 이루어진 최소 CRISPR 어레이에 이어서 반복-스페이서-반복 서열을 동일한 반응으로 전사하였다. TXTL 시스템에서의 엔도뉴클레아제 및 tracr 서열의 성공적인 발현에 이어지는 CRISPR 어레이 프로세싱은 활성 *시험관 내* CRISPR 뉴클레아제 복합체를 제공하였다.

[0567] 최소 어레이에 이어지는 8N 혼합 염기와 일치하는 스페이서 서열을 함유하는 표적 플라스미드의 라이브러리(예비 PAM 서열)를 TXTL 반응의 출력과 함께 인큐베이션하였다. 1 내지 3시간 후, 반응을 중단시키고, DNA 클린업 키트(예를 들어, Zymo DCC, AMPure XP 비드, QiaQuick 등)를 통해 DNA를 회수하였다. 어댑터 서열은 엔도뉴클레아제에 의해 절단된 활성 PAM 서열을 갖는 DNA에 무딘-말단으로 결찰된 반면, 절단되지 않은 DNA는 결찰을 위해 접근할 수 없었다. 이에 이어서, 활성 PAM 서열을 포함하는 DNA 분절을 PCR에 의해 라이브러리 및 어댑터 서열에 특이적인 프라이머로 증폭시켰다. PCR 증폭 생성물을 겔 상에서 분해하여 절단 이벤트에 해당하는 앰플리콘을 식별하였다. 절단 반응의 증폭된 분절을 또한 NGS 라이브러리의 제조를 위한 템플릿으로서 사용하였다. 8N에서 시작하는 라이브러리의 하위 집합인 결과적인 라이브러리를 시퀀싱하여 활성 CRISPR 복합체에 대한 올바른 PAM을 함유하는 서열을 밝혀냈다. 단일 RNA 작제물을 사용한 PAM 시험의 경우, *시험관 내* 전사된 RNA를 플라스미드 라이브러리와 함께 첨가하고 tracr/최소 CRISPR 어레이 템플릿을 생략한 것을 제외하고는 동일한 절차를 반복하였다. NGS 라이브러리가 제조된 엔도뉴클레아제의 경우, seqLogo(예를 들어, Huber 등의 문헌[Nat Methods. 2015 Feb;12(2):115-21] 참조) 표현을 구성하였다. 이러한 표현을 구성하는 데 사용되는 seqLogo 모듈은 DNA 서열 모티프(예를 들어, PAM 서열)의 위치 가중치 매트릭스를 취하고, Schneider 및 Stephens에 의해 소개된 해당 서열 로고(예를 들어, Schneider 등의 문헌[핵산 Res. 1990 Oct 25;18(20):6097-100] 조)를 도표화한다. seqLogo 표현에서의 시퀀스를 나타내는 문자는 정렬된 시퀀스(예를 들어, PAM 시퀀스)의 각 위치에 대해 서로에 대해 위로 쌓여 있다. 각 문자의 높이는 이의 빈도에 비례하며, 가장 흔한 문자가 상단에 있도록 문자가 정렬되었다.

[0568] **예 3 - (일반적인 프로토콜) tracrRNA 및 sgRNA 구조의 RNA 접힘**

[0569] 37℃에서 가이드 RNA 서열의 접힌 구조를 Andronescu 등의 문헌[Bioinformatics. 2007 Jul 1;23(13):i19-28](이는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다)의 방법을 사용하여 계산하였다.

[0570] **예 4 - (일반적인 프로토콜) MG CRISPR 복합체의 시험관 내 절단 효율**

[0571] 엔도뉴클레아제를 프로테아제 결핍 *E. coli* B 균주에서의 유도성 T7 프로모터로부터의 His-태그된 융합 단백질로서 발현시켰다. His-태그된 단백질을 발현하는 세포를 초음파처리로 용해시키고, His-태그된 단백질을 AKTA Avant FPLC(GE Lifescience) 상의 HisTrap FF 컬럼(GE Lifescience) 상의 Ni-NTA 친화도 크로마토그래피로 정제시켰다. 용리액을 아크릴아미드 겔(Bio-Rad) 상의 SDS-PAGE로 분해하고, InstantBlue Ultrafast 쿠마시(Sigma-Aldrich)로 염색하였다. 순도를 ImageLab 소프트웨어(Bio-Rad)를 사용하는 단백질 밴드의 밀도계를 사용하여 결정하였다. 정제된 엔도뉴클레아제를 50 mM Tris-HCl, 300 mM NaCl, 1 mM TCEP, 5% 글리세롤로 이루어진 보관 완충액(pH 7.5) 내로 투석하고; -80℃에서 보관하였다.

[0572] 스페이서 서열 및 PAM 서열을 함유하는 표적 DNA(예를 들어, 예 2에서와 같이 결정됨)를 DNA 합성에 의해 작제하였다. PAM이 퇴행성 염기를 가질 경우 단일 대표 PAM을 시험을 위해 선택하였다. 표적 DNA는 일 단부로부터 700 bp에 위치한 PAM 및 스페이서를 갖는 PCR 증폭을 통해 플라스미드로부터 유래된 2200 bp의 선형 DNA로 구성되었다. 성공적인 절단은 700 및 1500 bp의 단편을 생성하였다. 표적 DNA, *시험관 내* 전사된 단일 RNA, 및 정제된 재조합 단백질을 과량의 단백질 및 RNA와 함께 절단 완충액(10 mM Tris, 100 mM NaCl, 10 mM $MgCl_2$) 중에 합치고, 5분 내지 3시간, 통상적으로 1시간 동안 인큐베이션하였다. RNAse A를 첨가하고 60분의 인큐베이션을 통해 반응을 중단시켰다. 이에 이어서, 반응물을 1.2% TAE 아가로오스 겔 상에서 분리하고, 절단된 표적 DNA의 분획을 ImageLab 소프트웨어에서 정량화하였다.

[0573] **예 5 - (일반적인 프로토콜) *E. coli*에서의 MG CRISPR 복합체의 게놈 절단 활성의 시험**

[0574] *E. coli*은 이중 가닥 DNA 절단을 효율적으로 복구할 능력이 없다. 따라서, 게놈 DNA의 절단은 치명적인 사건일 수 있다. 이러한 현상을 활용하여, 엔도뉴클레아제 활성을 *E. coli*에서 이의 게놈 DNA에 통합된 스페이서/표적 및 PAM 서열을 갖는 표적 균주에서 엔도뉴클레아제 및 tracrRNA를 재조합적으로 발현시킴으로써 시험하였다.

[0575] 이러한 검정에서, PAM 서열은 예 2에 기술된 방법에 의해 결정된 바와 같이 시험되는 엔도뉴클레아제에 특이적이다. sgRNA 서열을 tracrRNA의 서열 및 예측된 구조에 기초하여 결정하였다. 반복의 5' 말단으로부터 시작하여, 8 내지 12 bp(일반적으로 10 bp)의 반복-항-반복 페어링을 선택하였다. 남아 있는 반복의 3' 말단 및 tracrRNA의 5' 말단을 테트라루프로 대체하였다. 일반적으로, 테트라루프는 GAAA였지만, 특히 GAAA 서열이 폴딩을 방해할 것으로 예측되는 경우, 다른 테트라루프를 사용할 수 있다. 이러한 경우, TTCG 테트라루프를 사용하였다.

[0576] 게놈 DNA에 통합된 PAM 서열을 갖는 조작된 균주를 엔도뉴클레아제를 암호화하는 DNA로 형질전환시켰다. 이에 이어서, 형질전환체를 화학적유능(chemocompetent)으로 만들고, 표적 서열에 특이적이거나("표적화") 표적에 비특이적인("비표적화") 50 ng의 단일 가이드 RNA로 형질전환시켰다. 열충격 후, 37℃에서 2시간 동안 SOC에서 형질전환을 회복시켰다. 이에 이어서, 뉴클레아제 효율을 유도 배지 상에서 성장시킨 5배 희석 시리즈로 측정하였다. 콜로니를 희석 시리즈로부터 3회 정량화하였다.

[0577] **예 6a - (일반적인 프로토콜) 포유류 세포에서의 MG CRISPR 복합체의 게놈 절단 활성의 시험**

[0578] 포유류 세포에서의 표적화 및 절단 활성을 규명하기 위해, MG Cas 효과기 단백질 서열을 다음 2개의 포유류 발현 벡터에서 시험하였다: (a) C-말단 SV40 NLS 및 2A-GFP 태그를 갖는 하나의 벡터, 및 (b) GFP 태그가 없고 2개의 SV40 NLS 서열을 갖는 하나의 벡터, 즉 N-말단 상의 하나의 벡터 및 C-말단 상의 하나의 벡터. 일부 경우에, 엔도뉴클레아제를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 코돈 최적화하였다.

[0579] 표적화 서열이 부착된 상응하는 단일 가이드 RNA 서열(sgRNA)은 제2 포유류 발현 벡터 내로 클로닝된다. 2개의 플라스미드를 HEK293T 세포 내로 공동 형질감염시킨다. 발현 플라스미드 및 sgRNA 표적화 플라스미드를 HEK293T 세포 내로 공동 형질감염시킨 후 72시간차에, DNA를 추출하고 이를 NGS-라이브러리의 제조에 사용한다. NHEJ 백분율은 포유류 세포에서의 효소의 표적화 효율을 입증하기 위해 표적 부위의 시퀀싱에서의 인델을 통해 측정된다. 각각의 단백질의 활성을 시험하기 위해 적어도 10개의 상이한 표적 부위를 선택하였다.

[0580] **예 6b - (일반적인 프로토콜) 포유류 세포에서의 MG CRISPR 복합체의 게놈 절단 활성의 시험**

[0581] 포유류 세포에서의 표적화 및 절단 활성을 규명하기 위해, MG Cas 효과기 단백질 서열을 다음 2개의 포유류 발현 벡터에서 시험하였다: (a) 측부 N 및 C-말단 SV40 NLS 서열, C-말단 His 태그, 및 His 태그 이후 C 말단에 2A-GFP 태그가 있는 하나의 벡터(백본1), 및 (b) 측부 NLS 서열 및 C-말단 His 태그가 있지만 T2A GFP 태그가 없는 하나의 벡터(백본 2). 일부 경우에, 엔도뉴클레아제를 암호화하는 뉴클레오티드 서열은 대장균 세포에서의 발현에 대해 코돈 최적화되거나 포유류 세포에서의 발현에 대해 코돈-최적화된 천연 서열이었다.

[0582] 표적화 서열이 부착된 상응하는 단일 가이드 RNA 서열(sgRNA)을 제2 포유류 발현 벡터 내로 클로닝하였다. 2개의 플라스미드를 HEK293T 세포 내로 공동 형질감염시켰다. 발현 플라스미드 및 sgRNA 표적화 플라스미드를 HEK293T 세포 내로 공동 형질감염시킨 후 72시간 차에, DNA를 추출하고 이를 NGS-라이브러리의 제조에 사용하였다. NHEJ 백분율을 포유류 세포에서의 효소의 표적화 효율을 입증하기 위해 표적 부위의 시퀀싱에서의 인델을 통해 측정하였다. 각각의 단백질의 활성을 시험하기 위해 약 7 내지 12개의 상이한 표적 부위를 선택하였다. 5% 인델의 임의의 임계값을 사용하여 활성 후보를 식별하였다.

[0583] **예 7 - B2M에 대한 유전자 편집 결과의 DNA 수준**

[0584] 제조사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, T 세포(200,000) 내로의 MG3-6 RNP(106 pmol 단백질/160 pmol 가이드)(서열번호 6305-6386)의 핵감염을 수행하였다. 형질감염 후 5일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA(서열번호 6387-6468)에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 1**).

[0585] **표 1A:**

예 7 에 사용된 가이드 서열

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6305	MG3-6-B2M-sgRNA-A1	mC*mG*mC*rUrArCrUrCrUrCrUrCrUrUrUrCrUrGrGrCrCrUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6306	MG3-6-B2M-sgRNA-B1	mA*mG*mA*rGrArCrUrCrArCrGrCrUrGrGrArUrArGrCrCrUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6307	MG3-6-B2M-sgRNA-C1	mG*mA*mG*rArGrArGrUrArGrCrGrCrGrArGrCrArCrArGrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6308	MG3-6-B2M-sgRNA-D1	mC*mC*mC*rGrArUrArUrUrCrCrUrCrArGrGrUrArCrUrCrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6309	MG3-6-B2M-sgRNA-E1	mA*mU*mU*rCrCrUrCrArGrGrUrArCrUrCrCrArArArGrArUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6310	MG3-6-B2M-sgRNA-F1	mA*mA*mU*rUrUrCrCrUrGrArArUrUrGrCrUrArUrGrUrGrUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6311	MG3-6-B2M-sgRNA-G1	mG*mA*mG*rArArUrUrGrArArArArArGrUrGrGrArGrCrArUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6312	MG3-6-B2M-sgRNA-H1	mG*mC*mA*rUrUrCrArGrArCrUrUrGrUrCrUrUrUrCrArGrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6313	MG3-6-B2M-sgRNA-A2	mA*mG*mA*rCrUrUrArCrCrCrCrArCrUrUrArArCrUrArUrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6314	MG3-6-B2M-sgRNA-B2	mU*mU*mC*rArGrUrGrUrArGrUrArCrArArGrArGrArUrArGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6315	MG3-6-B2M-sgRNA-C2	mA*mG*mU*rUrCrUrCrCrUrUrGrGrUrGrGrCrCrCrGrCrCrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0586]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6316	MG3-6-B2M-sgRNA-D2	mG*mU*mG*rGrCrCrCrGrCrCrGrUrGrGrGrGrCrUrArGrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6317	MG3-6-B2M-sgRNA-E2	mC*mC*mG*rCrCrGrUrGrGrGrGrCrUrArGrUrCrCrArGrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6318	MG3-6-B2M-sgRNA-F2	mG*mC*mC*rCrCrUrUrUrCrGrGrCrGrGrGrGrArGrCrArGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6319	MG3-6-B2M-sgRNA-G2	mG*mA*mC*rCrUrUrUrGrGrCrCrUrArCrGrGrCrGrArCrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6320	MG3-6-B2M-sgRNA-H2	mG*mC*mG*rUrCrGrArUrArArGrCrGrUrCrArGrArGrCrGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6321	MG3-6-B2M-sgRNA-A3	mC*mG*mU*rCrArGrArGrCrGrCrCrGrArGrGrUrUrGrGrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6322	MG3-6-B2M-sgRNA-B3	mG*mG*mG*rUrUrUrCrUrCrUrUrCrCrGrCrUrCrUrUrUrCrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6323	MG3-6-B2M-sgRNA-C3	mG*mC*mG*rCrArGrCrUrGrGrArGrUrGrGrGrGrGrArCrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6324	MG3-6-B2M-sgRNA-D3	mG*mC*mU*rCrGrUrCrCrCrArArArGrGrCrGrCrGrGrCrGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6325	MG3-6-B2M-sgRNA-E3	mU*mG*mU*rGrArArCrGrCrGrUrGrGrArGrGrGrGrCrGrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6326	MG3-6-B2M-sgRNA-F3	mG*mU*mC*rUrGrCrUrGrCrGrGrCrUrCrUrGrCrUrUrCrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6327	MG3-6-B2M-sgRNA-G3	mG*mC*mU*rUrCrCrCrUrUrArGrArCrUrGrGrArGrArGrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0587]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6328	MG3-6-B2M-sgRNA-H3	mA*mA*mG*rUrUrCrGrCrArUrGrUrCrCrUrArGrCrArCrCrUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6329	MG3-6-B2M-sgRNA-A4	mU*mC*mC*rUrArGrCrArCrCrUrCrUrGrGrGrUrCrUrArUrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6330	MG3-6-B2M-sgRNA-B4	mC*mC*mU*rCrCrCrCrArCrGrGrUrGrUrGrCrCrCrCrArCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6331	MG3-6-B2M-sgRNA-C4	mA*mA*mG*rGrGrArArGrCrArGrArGrCrCrGrCrArGrCrArGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6332	MG3-6-B2M-sgRNA-D4	mG*mC*mU*rUrArCrCrCrGrGrGrCrGrArCrGrCrCrUrCrCrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6333	MG3-6-B2M-sgRNA-E4	mC*mU*mC*rCrArGrCrUrGrCrGrCrUrGrGrGrGrArGrCrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6334	MG3-6-B2M-sgRNA-F4	mU*mU*mG*rUrCrCrCrGrArCrCrCrUrCrCrCrGrUrCrGrCrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6335	MG3-6-B2M-sgRNA-G4	mG*mA*mC*rCrCrUrCrCrCrGrUrCrGrCrCrGrUrArGrGrCrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6336	MG3-6-B2M-sgRNA-H4	mG*mU*mG*rCrGrCrArCrCrCrCrCrUrUrCrCrCrArCrUrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6337	MG3-6-B2M-sgRNA-A5	mC*mC*mA*rGrGrCrCrArCrCrCrCrGrCrCrGrCrUrUrCrCrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6338	MG3-6-B2M-sgRNA-B5	mG*mC*mC*rGrCrUrUrCrCrCrCrGrArGrArUrCrCrArGrCrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr

[0588]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6339	MG3-6-B2M-sgRNA-C5	mC*mC*mA*rGrCrCrCrUrGrGrArCrUrArGrCrCrCrCrArCrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6340	MG3-6-B2M-sgRNA-D5	mU*mC*mA*rCrGrGrArGrCrGrArGrArGrArGrCrArCrArGrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6341	MG3-6-B2M-sgRNA-E5	mA*mG*mA*rGrGrGrUrGrCrArGrArGrCrGrGrGrArGrArGrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6342	MG3-6-B2M-sgRNA-F5	mA*mG*mG*rArCrCrArGrArGrCrGrGrGrArGrGrGrUrArGrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6343	MG3-6-B2M-sgRNA-G5	mC*mG*mA*rGrArUrUrGrArArGrUrCrArArGrCrCrUrArArCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6344	MG3-6-B2M-sgRNA-H5	mA*mG*mA*rArArArArCrGrCrCrUrGrCrCrUrUrCrUrGrCrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6345	MG3-6-B2M-sgRNA-A6	mU*mC*mU*rCrCrArGrArGrCrArArArCrUrGrGrGrCrGrGrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6346	MG3-6-B2M-sgRNA-B6	mG*mG*mC*rCrCrUrGrUrGrGrUrCrUrUrUrUrCrGrUrArCrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6347	MG3-6-B2M-sgRNA-C6	mA*mC*mU*rUrUrCrGrGrUrUrUrUrGrArArArArCrArUrGrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6348	MG3-6-B2M-sgRNA-D6	mA*mA*mA*rGrArGrGrArArGrCrCrCrUrCrUrGrUrArCrGrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6349	MG3-6-B2M-sgRNA-E6	mA*mG*mC*rCrCrUrCrUrGrUrArCrGrArArArArGrArCrCrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0589]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6350	MG3-6-B2M-sgRNA-F6	mU*mG*mC*rGrCrUrCrCrGrCrArArArArGrCrCrCrUrGrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6351	MG3-6-B2M-sgRNA-G6	mA*mA*mA*rArGrArArArArGrArArArGrArArArGrArArGrUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6352	MG3-6-B2M-sgRNA-H6	mA*mA*mA*rGrArUrArArUrCrCrArArGrArArUrGrGrUrUrArCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6353	MG3-6-B2M-sgRNA-A7	mU*mA*mC*rCrArArGrArCrUrGrUrUrGrArGrGrArCrGrCrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6354	MG3-6-B2M-sgRNA-B7	mU*mC*mC*rArArArGrUrArArUrArCrArUrGrCrCrArUrGrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6355	MG3-6-B2M-sgRNA-C7	mA*mU*mU*rArCrUrUrUrGrGrArArArUrUrUrUrCrArArArAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6356	MG3-6-B2M-sgRNA-D7	mA*mA*mA*rUrArArGrArUrUrUrUrUrUrUrUrArArArUrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6357	MG3-6-B2M-sgRNA-E7	mU*mG*mC*rCrArGrGrUrArCrUrUrArGrArArArGrUrGrCrUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6358	MG3-6-B2M-sgRNA-F7	mC*mU*mC*rArArCrArGrUrCrUrUrGrGrUrArArCrCrArUrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6359	MG3-6-B2M-sgRNA-G7	mU*mG*mA*rUrArCrUrUrGrUrCrCrUrCrUrUrCrUrUrArGrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6360	MG3-6-B2M-sgRNA-H7	mG*mC*mU*rUrUrUrArArUrGrUrUrArUrGrArArArArArArAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6361	MG3-6-B2M-sgRNA-A8	mU*mA*mU*rGrArArArArArArArUrCrArGrGrUrCrUrUrCrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr

[0590]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6362	MG3-6-B2M-sgRNA-B8	mG*mA*mU*rUrCrCrCrCrArArUrCrCrArCrCrUrCrUrUrGrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6363	MG3-6-B2M-sgRNA-C8	mG*mG*mC*rArGrCrUrArCrUrCrCrUrCrCrUrUrGrUrCrUrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6364	MG3-6-B2M-sgRNA-D8	mG*mC*mU*rGrUrGrGrGrArGrArArGrGrArGrGrArGrUrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6365	MG3-6-B2M-sgRNA-E8	mU*mA*mG*rArArArCrArCrCrCrUrArUrCrArUrUrArArGrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6366	MG3-6-B2M-sgRNA-F8	mA*mG*mG*rCrUrArCrUrArGrCrCrCrCrArUrCrArArGrArGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6367	MG3-6-B2M-sgRNA-G8	mG*mA*mG*rGrUrGrGrArUrUrGrGrGrArArUrCrUrArArUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6368	MG3-6-B2M-sgRNA-H8	mA*mU*mA*rArGrArArCrArUrArUrUrArArArUrGrCrCrUrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6369	MG3-6-B2M-sgRNA-A9	mU*mA*mA*rArUrGrCrCrUrCrArGrGrGrArUrCrArGrArGrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6370	MG3-6-B2M-sgRNA-B9	mC*mU*mC*rUrCrUrGrUrUrUrGrArGrGrGrArArGrGrCrGrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6371	MG3-6-B2M-sgRNA-C9	mC*mU*mA*rArGrArArGrArGrGrArCrArArGrUrArUrCrArGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6372	MG3-6-B2M-sgRNA-D9	mC*mA*mC*rCrUrArUrCrCrCrUrGrUrUrGrUrArUrUrUrUrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr

[0591]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6373	MG3-6-B2M-sgRNA-E9	mA*mU*mU*rUrGrCrCrArGrCrUrCrUrUrGrUrArUrGrCrArUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6374	MG3-6-B2M-sgRNA-F9	mG*mA*mA*rArUrUrArGrGrUrArCrArArArGrUrCrArGrArGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6375	MG3-6-B2M-sgRNA-G9	mU*mA*mU*rArArArArCrCrUrCrArGrCrArGrArArArUrArAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6376	MG3-6-B2M-sgRNA-H9	mU*mG*mU*rUrGrUrUrUrGrGrUrArArGrArArCrArUrArCrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6377	MG3-6-B2M-sgRNA-A10	mA*mA*mC*rArArArArCrCrUrCrUrUrUrArUrUrUrCrUrGrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6378	MG3-6-B2M-sgRNA-B10	mA*mU*mU*rUrCrUrGrCrUrGrArGrGrUrUrUrArUrArUrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6379	MG3-6-B2M-sgRNA-C10	mG*mC*mA*rArArUrArCrCrUrUrArArArUrGrGrUrUrGrArGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6380	MG3-6-B2M-sgRNA-D10	mA*mU*mA*rArArArUrArCrArArCrArGrGrGrArUrArGrGrUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6381	MG3-6-B2M-sgRNA-E10	mA*mA*mU*rGrGrArGrUrArArUrGrCrArUrGrUrGrArCrArGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6382	MG3-6-B2M-sgRNA-F10	mA*mC*mA*rGrGrUrGrArUrUrGrCrUrGrUrArArArCrUrArGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6383	MG3-6-B2M-sgRNA-G10	mC*mU*mU*rUrCrCrArArArArUrGrArGrArGrCrCrArUrGrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0592]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6384	MG3-6-B2M-sgRNA-H10	mA*mA*mU*rArUrUrGrCrCrArGrGrGrUrArUrUrUrCrArCrUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6385	MG3-6-B2M-sgRNA-A11	mU*mG*mC*rCrUrUrUrUrUrUrGrUrUrUrUrUrUrUrCrUrAr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6386	MG3-6-B2M-sgRNA-B11	mU*mC*mU*rArGrCrArGrUrArUrCrUrUrCrUrGrUrCrArCrUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
화학적 변형에 대한 참고 사항: m = 2'O-메틸 리보뉴클레오티드(예를 들어, mC = 2' 히드록실 대신 2'-O 메틸을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); f = 2'-플루오로 리보뉴클레오티드(예를 들어, fC = 2' 히드록실 대신 2' 플루오린을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); * = 포스포로티오에이트 결합; r: 당 리보오스를 포함하는 천연 RNA 결합(예를 들어, A 염기의 리보오스 또는 RNA 형태는 rA 로 기록됨), d: 데옥시리보오스 당(DNA) 결합(예를 들어, A 염기의 데옥시리보오스 형태는 dA 로 기록됨)		

[0593]

[0594] 표 1B:

예 7 에서 표적화된 부위

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6387	MG3-6-B2M-표적 부위-A1	CGCTACTCTCTCTTTCTGGCCT
6388	MG3-6-B2M-표적 부위-B1	AGAGACTCACGCTGGATAGCCT
6389	MG3-6-B2M-표적 부위-C1	GAGAGAGTAGCGCGAGCACAGC
6390	MG3-6-B2M-표적 부위-D1	CCCGATATTCCTCAGGTACTCC
6391	MG3-6-B2M-표적 부위-E1	ATTCCTCAGGTACTCCAAAGAT
6392	MG3-6-B2M-표적 부위-F1	AATTTCCTGAATTGCTATGTGT
6393	MG3-6-B2M-표적 부위-G1	GAGAATTGAAAAAGTGGAGCAT
6394	MG3-6-B2M-표적 부위-H1	GCATTCAGACTTGTCTTTCAGC
6395	MG3-6-B2M-표적 부위-A2	AGACTTACCCCACTTAACTATC
6396	MG3-6-B2M-표적 부위-B2	TTCAGTGTAGTACAAGAGATAG
6397	MG3-6-B2M-표적 부위-C2	AGTTCTCCTTGGTGGCCCGCCG
6398	MG3-6-B2M-표적 부위-D2	GTGGCCCGCCGTGGGGCTAGTC
6399	MG3-6-B2M-표적 부위-E2	CCGCCGTGGGGCTAGTCCAGGG
6400	MG3-6-B2M-표적 부위-F2	GCCCCTTTCGGCGGGGAGCAGG
6401	MG3-6-B2M-표적 부위-G2	GACCTTTGGCCTACGGCGACGG
6402	MG3-6-B2M-표적 부위-H2	GCGTCGATAAGCGTCAGAGCGC
6403	MG3-6-B2M-표적 부위-A3	CGTCAGAGCGCCGAGGTTGGGG
6404	MG3-6-B2M-표적 부위-B3	GGGTTTCTCTTCCGCTCTTTCG
6405	MG3-6-B2M-표적 부위-C3	GCGCAGCTGGAGTGGGGGACGG
6406	MG3-6-B2M-표적 부위-D3	GCTCGTCCCAAAGGCGCGGCGC
6407	MG3-6-B2M-표적 부위-E3	TGTGAACGCGTGGAGGGGCGCT
6408	MG3-6-B2M-표적 부위-F3	GTCTGCTGCGGCTCTGCTTCCC
6409	MG3-6-B2M-표적 부위-G3	GCTTCCCTTAGACTGGAGAGCT
6410	MG3-6-B2M-표적 부위-H3	AAGTTCGCATGTCCTAGCACCT
6411	MG3-6-B2M-표적 부위-A4	TCCTAGCACCTCTGGGTCTATG
6412	MG3-6-B2M-표적 부위-B4	CCTCCCCACGGTGTGGCCCCAC
6413	MG3-6-B2M-표적 부위-C4	AAGGGAAGCAGAGCCGCAGCAG
6414	MG3-6-B2M-표적 부위-D4	GCTTACCCGGGCGACGCCTCCC
6415	MG3-6-B2M-표적 부위-E4	CTCCAGCTGCGCTGGGGGAGCC
6416	MG3-6-B2M-표적 부위-F4	TTGTCCCGACCCTCCCGTCGCC
6417	MG3-6-B2M-표적 부위-G4	GACCCTCCCGTCGCCGTAGGCC
6418	MG3-6-B2M-표적 부위-H4	GTGCGCACCCCCTTCCCCACTC
6419	MG3-6-B2M-표적 부위-A5	CCAGGCCACCCCGCCGCTTCCC
6420	MG3-6-B2M-표적 부위-B5	GCCGCTTCCCCGAGATCCAGCC
6421	MG3-6-B2M-표적 부위-C5	CCAGCCCTGGACTAGCCCCACG
6422	MG3-6-B2M-표적 부위-D5	TCACGGAGCGAGAGAGCACAGC
6423	MG3-6-B2M-표적 부위-E5	AGAGGGTGCAGAGCGGGAGAGG
6424	MG3-6-B2M-표적 부위-F5	AGGACCAGAGCGGGAGGGTAGG
6425	MG3-6-B2M-표적 부위-G5	CGAGATTGAAGTCAAGCCTAAC
6426	MG3-6-B2M-표적 부위-H5	AGAAAAACGCCTGCCTTCTGCG
6427	MG3-6-B2M-표적 부위-A6	TCTCCAGAGCAAACTGGGCGGC

[0595]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6428	MG3-6-B2M-표적 부위-B6	GGCCCTGTGGTCTTTTCGTACA
6429	MG3-6-B2M-표적 부위-C6	ACTTTCGGTTTTGAAAACATGA
6430	MG3-6-B2M-표적 부위-D6	AAAGAGGAAGCCCTCTGTACGA
6431	MG3-6-B2M-표적 부위-E6	AGCCCTCTGTACGAAAAGACCA
6432	MG3-6-B2M-표적 부위-F6	TGCGCTCCCGCAAAAGCCCTGG
6433	MG3-6-B2M-표적 부위-G6	AAAAGAAAAGAAAGAAAGAAGT
6434	MG3-6-B2M-표적 부위-H6	AAAGATAATCCAAGATGGTTAC
6435	MG3-6-B2M-표적 부위-A7	TACCAAGACTGTTGAGGACGCC
6436	MG3-6-B2M-표적 부위-B7	TCCAAAGTAATACATGCCATGC
6437	MG3-6-B2M-표적 부위-C7	ATTACTTTGGAAATTTTCAAAA
6438	MG3-6-B2M-표적 부위-D7	AAATAAGATTTTTTTTTAAATA
6439	MG3-6-B2M-표적 부위-E7	TGCCAGGTACTTAGAAAGTGCT
6440	MG3-6-B2M-표적 부위-F7	CTCAACAGTCTTGGTAACCATC
6441	MG3-6-B2M-표적 부위-G7	TGATACTTGTCCTCTTCTTAGA
6442	MG3-6-B2M-표적 부위-H7	GCTTTTAATGTTATGAAAAAAA
6443	MG3-6-B2M-표적 부위-A8	TATGAAAAAAATCAGGTCTTCA
6444	MG3-6-B2M-표적 부위-B8	GATTCCCCAATCCACCTCTTGA
6445	MG3-6-B2M-표적 부위-C8	GGCAGCTACTCCTCCTTGTCTG
6446	MG3-6-B2M-표적 부위-D8	GCTGTGGGGAGAAGGAGGAGTA
6447	MG3-6-B2M-표적 부위-E8	TAGAAACACCCTATCATTAAGG
6448	MG3-6-B2M-표적 부위-F8	AGGCTACTAGCCCCATCAAGAG
6449	MG3-6-B2M-표적 부위-G8	GAGGTGGATTGGGGAATCTAAT
6450	MG3-6-B2M-표적 부위-H8	ATAAGAACATATTAAATGCCTC
6451	MG3-6-B2M-표적 부위-A9	TAAATGCCTCAGGGATCAGAGC
6452	MG3-6-B2M-표적 부위-B9	CTCTCTGTTTGAGGGAAGGCGG
6453	MG3-6-B2M-표적 부위-C9	CTAAGAAGAGGACAAGTATCAG
6454	MG3-6-B2M-표적 부위-D9	CACCTATCCCTGTTGTATTTTA
6455	MG3-6-B2M-표적 부위-E9	ATTTGCCAGCTCTTGTATGCAT
6456	MG3-6-B2M-표적 부위-F9	GAAATTAGGTACAAAGTCAGAG
6457	MG3-6-B2M-표적 부위-G9	TATAAAACCTCAGCAGAAATAA
6458	MG3-6-B2M-표적 부위-H9	TGTTGTTTGGTAAGAACATACC
6459	MG3-6-B2M-표적 부위-A10	AACAAAACCTCTTTATTTCTGC
6460	MG3-6-B2M-표적 부위-B10	ATTTCTGCTGAGGTTTTATATG
6461	MG3-6-B2M-표적 부위-C10	GCAAATACCTTAAATGGTTGAG
6462	MG3-6-B2M-표적 부위-D10	ATAAAATACAACAGGGATAGGT
6463	MG3-6-B2M-표적 부위-E10	AATGGAGTAATGCATGTGACAG
6464	MG3-6-B2M-표적 부위-F10	ACAGGTGATTGCTGTAAACTAG
6465	MG3-6-B2M-표적 부위-G10	CTTTCCAAAATGAGAGGCATGA
6466	MG3-6-B2M-표적 부위-H10	AATATTGCCAGGGTATTTCACT
6467	MG3-6-B2M-표적 부위-A11	TGCCTTTTTTGTTTTTTTTCTA
6468	MG3-6-B2M-표적 부위-B11	TCTAGCAGTATCTTCTGTCACT

[0596]

[0597] **예 8 - 마우스 TRAC에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0598] 1차 T 세포를 C57BL/6 마우스 비장으로부터 정제하였다. Lonza 4D 전기천공기 및 100 pmol 형질감염 인핸서(IDT)를 사용하여, T 세포(200,000) 내로의 MG3-6 RNP(126 pmol 단백질/160 pmol 가이드)(서열번호 6469-6508)의 핵감염을 수행하였다. 형질감염 후 5일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA(서열번호 6509-6548)에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 2**). 유세포 계측법에 의한 분석을 위해, 핵감염 후 3일차에, 항-마우스 100,000개의 마우스 T 세포를 4℃에서 30분 동안 항-마우스 CD3 항체(Clone 17A2, Invitrogen 11-0032-82)로 염색하고, Attune Nxt 유세포 계측기를 이용해 분석하였다.

[0599] 표 2A:

예 8 에 사용된 가이드 서열

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6469	MG3-6-mTRAC-sgRNA-A1	mA*mG*mA*rArCrCrUrGrCrUrGrUrGrUrArCrCrArGrUrUrArG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6470	MG3-6-mTRAC-sgRNA-B1	mA*mA*mC*rUrGrUrGrCrUrGrGrArCrArUrGrArArArGrCrUrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6471	MG3-6-mTRAC-sgRNA-C1	mA*mA*mG*rCrUrArUrGrGrArUrUrCrCrArArGrArGrCrArArG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6472	MG3-6-mTRAC-sgRNA-D1	mU*mC*mA*rCrCrUrGrCrCrArArGrArUrArUrCrUrUrCrArArG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6473	MG3-6-mTRAC-sgRNA-E1	mA*mG*mU*rUrUrUrGrUrCrArGrUrGrArUrGrArArCrGrUrUrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6474	MG3-6-mTRAC-sgRNA-F1	mG*mA*mA*rCrArGrGrCrArGrArGrGrGrUrGrCrUrGrUrCrCrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6475	MG3-6-mTRAC-sgRNA-G1	mC*mA*mG*rArGrGrGrUrGrCrUrGrUrCrCrUrGrArGrArCrCrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6476	MG3-6-mTRAC-sgRNA-H1	mA*mG*mG*rArUrCrUrUrUrUrArArCrUrGrGrUrArCrArCrArG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6477	MG3-6-mTRAC-sgRNA-A2	mU*mU*mU*rArArCrUrGrGrUrArCrArCrArGrCrArGrGrUrUrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6478	MG3-6-mTRAC-sgRNA-B2	mA*mG*mG*rUrUrCrUrGrGrGrUrUrCrUrGrGrArUrGrUrCrUrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6479	MG3-6-mTRAC-sgRNA-C2	mA*mA*mC*rUrUrUrCrArArArArCrCrUrGrUrCrArGrUrUrArG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0600]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6480	MG3-6-mTRAC-sgRNA-D2	mC*mG*mA*rArUrCrCrUrCrCrUrGrCrUrGrArArArGrUrArGrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6481	MG3-6-mTRAC-sgRNA-E2	mG*mG*mA*rUrUrUrArArCrCrUrGrCrUrCrArUrGrArCrGrCrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6482	MG3-6-mTRAC-sgRNA-F2	mC*mU*mU*rUrCrArUrGrCrCrUrUrCrUrUrArCrCrUrCrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6483	MG3-6-mTRAC-sgRNA-G2	mG*mA*mC*rCrArCrArGrCrCrUrCrArGrCrGrUrCrArUrGrArG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6484	MG3-6-mTRAC-sgRNA-H2	mU*mA*mA*rArUrCrCrGrGrCrUrArCrUrUrUrCrArGrCrArGrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6485	MG3-6-mTRAC-sgRNA-A3	mA*mG*mG*rArUrUrCrGrGrArGrUrCrCrCrArUrArArCrUrGrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6486	MG3-6-mTRAC-sgRNA-B3	mA*mU*mA*rArCrUrGrArCrArGrGrUrUrUrUrGrArArArGrUrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6487	MG3-6-mTRAC-sgRNA-C3	mG*mU*mA*rCrUrUrCrCrUrCrArCrUrCrCrArGrGrUrCrUrGrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6488	MG3-6-mTRAC-sgRNA-D3	mC*mC*mA*rCrCrUrCrGrUrCrArArGrArCrGrGrCrUrGrUrCrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6489	MG3-6-mTRAC-sgRNA-E3	mU*mG*mG*rCrCrCrUrGrArUrUrCrArCrArArUrCrCrCrArCrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6490	MG3-6-mTRAC-sgRNA-F3	mU*mU*mC*rArCrArArUrCrCrCrArCrCrUrGrGrArUrCrUrCrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6491	MG3-6-mTRAC-sgRNA-G3	mC*mU*mG*rGrArUrCrUrCrCrCrArGrArArUrUrUrGrUrGrArGrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr

[0601]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6492	MG3-6-mTRAC-sgRNA-H3	mC*mA*mU*rUrCrArCrArArArArArArCrGrGrCrArGrGrGrGrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6493	MG3-6-mTRAC-sgRNA-A4	mA*mA*mC*rGrGrCrArGrGrGrGrCrGrGrGrGrCrUrUrCrUrCr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6494	MG3-6-mTRAC-sgRNA-B4	mG*mG*mG*rCrGrGrGrGrCrUrUrCrUrCrCrUrGrGrArUrCrUrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6495	MG3-6-mTRAC-sgRNA-C4	mA*mU*mC*rUrGrArArGrArCrCrCrUrCrCrCrCrCrArUrGrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6496	MG3-6-mTRAC-sgRNA-D4	mG*mU*mU*rUrUrUrUrGrUrUrUrUrUrUrUrUrUrUrUrUrUrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6497	MG3-6-mTRAC-sgRNA-E4	mG*mG*mU*rGrUrArGrArArArUrUrArUrCrUrCrArUrUrGrUrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6498	MG3-6-mTRAC-sgRNA-F4	mG*mG*mC*rUrCrArArUrArCrArCrArCrArGrUrArGrCrArGrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6499	MG3-6-mTRAC-sgRNA-G4	mA*mU*mU*rUrUrUrUrUrArCrArArCrArUrUrCrUrCrCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6500	MG3-6-mTRAC-sgRNA-H4	mA*mC*mA*rGrGrGrGrArGrUrCrUrGrCrCrArUrGrGrGrGrGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6501	MG3-6-mTRAC-sgRNA-A5	mG*mU*mC*rUrGrCrCrArUrGrGrGrGrGrArGrGrGrGrUrCrUr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6502	MG3-6-mTRAC-sgRNA-B5	mA*mG*mC*rArArCrCrUrUrCrCrUrCrArCrArArArUrCrUrGrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr

[0602]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6503	MG3-6-mTRAC-sgRNA-C5	mU*mC*mA*rCrArArArUrCrUrGrGrGrArGrArUrCrCrArGrGrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6504	MG3-6-mTRAC-sgRNA-D5	mA*mG*mA*rUrCrCrArGrGrUrGrGrGrArUrUrGrUrGrArArUrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6505	MG3-6-mTRAC-sgRNA-E5	mU*mG*mG*rGrArUrUrGrUrGrArArUrCrArGrGrGrCrCrArArG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6506	MG3-6-mTRAC-sgRNA-F5	mG*mA*mC*rArGrCrCrGrUrCrUrUrGrArCrGrArGrGrUrGrGrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6507	MG3-6-mTRAC-sgRNA-G5	mU*mG*mA*rGrGrArGrGrArUrGrGrArGrCrUrUrGrGrGrArGr GrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr ArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUr CrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGr GrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6508	MG3-6-mTRAC-sgRNA-H5	mG*mG*mA*rGrUrCrArGrGrCrUrCrUrGrUrCrArGrUrCrUrUrG rUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArAr GrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGr GrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
화학적 변형에 대한 참고 사항: m = 2'O-메틸 리보뉴클레오티드(예를 들어, mC = 2' 히드록실 대신 2'-O 메틸을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); f = 2'-플루오로 리보뉴클레오티드(예를 들어, fC = 2' 히드록실 대신 2' 플루오린을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); * = 포스포로티오에이트 결합; r: 당 리보오스를 포함하는 천연 RNA 결합(예를 들어, A 염기의 리보오스 또는 RNA 형태는 rA 로 기록됨), d: 데옥시리보오스 당(DNA) 결합(예를 들어, A 염기의 데옥시리보오스 형태는 dA 로 기록됨)		

[0603]

[0604] 표 2B:

예 8 에서 표적화된 부위 목록

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6509	MG3-6-mTRAC-표적 부위-A1	AGAACCTGCTGTGTACCAGTTA
6510	MG3-6-mTRAC-표적 부위-B1	AACTGTGCTGGACATGAAAGCT
6511	MG3-6-mTRAC-표적 부위-C1	AAGCTATGGATTCCAAGAGCAA
6512	MG3-6-mTRAC-표적 부위-D1	TCACCTGCCAAGATATCTTCAA
6513	MG3-6-mTRAC-표적 부위-E1	AGTTTTGTCAGTGATGAACGTT
6514	MG3-6-mTRAC-표적 부위-F1	GAACAGGCAGAGGGTGCTGTCC
6515	MG3-6-mTRAC-표적 부위-G1	CAGAGGGTGCTGTCCTGAGACC
6516	MG3-6-mTRAC-표적 부위-H1	AGGATCTTTTAACTGGTACACA
6517	MG3-6-mTRAC-표적 부위-A2	TTTAACTGGTACACAGCAGGTT
6518	MG3-6-mTRAC-표적 부위-B2	AGGTTCTGGGTTCTGGATGTCT
6519	MG3-6-mTRAC-표적 부위-C2	AACTTTCAAAACCTGTCAGTTA
6520	MG3-6-mTRAC-표적 부위-D2	CGAATCCTCCTGCTGAAAGTAG
6521	MG3-6-mTRAC-표적 부위-E2	GGATTTAACCTGCTCATGACGC
6522	MG3-6-mTRAC-표적 부위-F2	CTTTCATGCCTTCTTACCTCAA
6523	MG3-6-mTRAC-표적 부위-G2	GACCACAGCCTCAGCGTCATGA
6524	MG3-6-mTRAC-표적 부위-H2	TAAATCCGGCTACTTTCAGCAG
6525	MG3-6-mTRAC-표적 부위-A3	AGGATTCGGAGTCCCATAACTG
6526	MG3-6-mTRAC-표적 부위-B3	ATAACTGACAGGTTTTGAAAGT
6527	MG3-6-mTRAC-표적 부위-C3	GTACTTCCTCACTCCAGGTCTG
6528	MG3-6-mTRAC-표적 부위-D3	CCACCTCGTCAAGACGGCTGTC
6529	MG3-6-mTRAC-표적 부위-E3	TGGCCCTGATTCACAATCCCAC
6530	MG3-6-mTRAC-표적 부위-F3	TTCACAATCCCACCTGGATCTC
6531	MG3-6-mTRAC-표적 부위-G3	CTGGATCTCCCAGATTTGTGAG
6532	MG3-6-mTRAC-표적 부위-H3	CATTCACAAAAAACGGCAGGGG
6533	MG3-6-mTRAC-표적 부위-A4	AACGGCAGGGGCGGGGCTTCTC
6534	MG3-6-mTRAC-표적 부위-B4	GGGCGGGGCTTCTCCTGGATCT
6535	MG3-6-mTRAC-표적 부위-C4	ATCTGAAGACCCCTCCCCCATG
6536	MG3-6-mTRAC-표적 부위-D4	GTTTTTTGTTTTTTTTTTTTT
6537	MG3-6-mTRAC-표적 부위-E4	GGTGTAGAAATTATCTCATTGT
6538	MG3-6-mTRAC-표적 부위-F4	GGCTCAATACACACAGTAGCAG
6539	MG3-6-mTRAC-표적 부위-G4	ATTTTTTTTACAACATTCTCCA
6540	MG3-6-mTRAC-표적 부위-H4	ACAGGGGAGTCTGCCATGGGGG
6541	MG3-6-mTRAC-표적 부위-A5	GTCTGCCATGGGGGAGGGGTCT
6542	MG3-6-mTRAC-표적 부위-B5	AGCAACCTTCCTCACAAATCTG
6543	MG3-6-mTRAC-표적 부위-C5	TCACAAATCTGGGAGATCCAGG
6544	MG3-6-mTRAC-표적 부위-D5	AGATCCAGGTGGGATTGTGAAT
6545	MG3-6-mTRAC-표적 부위-E5	TGGGATTGTGAATCAGGGCCAA
6546	MG3-6-mTRAC-표적 부위-F5	GACAGCCGTCTTGACGAGGTGG
6547	MG3-6-mTRAC-표적 부위-G5	TGAGGAGGATGGAGCTTGGGAG
6548	MG3-6-mTRAC-표적 부위-H5	GGAGTCAGGCTCTGTCAGTCTT

[0605]

[0606] **예 9 - HPRT에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0607] 제조사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, T 세포(200,000) 내로의 MG3-6 RNP(126 pmol 단백질/160 pmol 가이드)(서열번호 6549-6615)의 핵감염을 수행하였다. 형질감염 후 5일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA(서열번호 6616-6682)에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 3**).

[0608] 표 3A:

예 9 에 사용된 가이드 서열

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6549	MG3-6-HPRT-sgRNA-A1	mU*mU*mC*rCrUrCrUrGrCrArUrCrArGrUrUrUrUrArArUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6550	MG3-6-HPRT-sgRNA-B1	mG*mU*mG*rGrGrCrUrUrGrUrGrUrUrCrUrArArArGrGrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6551	MG3-6-HPRT-sgRNA-C1	mA*mG*mG*rArGrUrGrArGrArUrUrGrGrUrUrUrUrUrGrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6552	MG3-6-HPRT-sgRNA-D1	mU*mA*mA*rArArArArUrArArUrUrUrArUrArArUrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6553	MG3-6-HPRT-sgRNA-E1	mG*mA*mG*rUrArUrUrUrUrUrArUrUrGrArArArArGrCrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6554	MG3-6-HPRT-sgRNA-F1	mA*mA*mA*rArArUrArUrUrUrUrCrCrCrUrArArCrArArArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6555	MG3-6-HPRT-sgRNA-G1	mA*mU*mC*rUrCrArGrCrUrArUrUrUrArGrUrCrArArArArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6556	MG3-6-HPRT-sgRNA-H1	mG*mU*mC*rCrUrArCrUrUrUrUrGrArCrUrArArArUrArGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6557	MG3-6-HPRT-sgRNA-A2	mA*mA*mC*rUrCrUrCrCrArArUrArUrArGrGrUrGrGrCrUrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6558	MG3-6-HPRT-sgRNA-B2	mA*mU*mU*rUrUrUrCrCrCrArUrArArArUrUrCrArArGrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6559	MG3-6-HPRT-sgRNA-C2	mC*mC*mA*rGrGrArCrUrGrGrArUrUrUrUrGrUrArGrGrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0609]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6560	MG3-6-HPRT-sgRNA-D2	mU*mG*mC*rArCrCrUrArCrArArArArUrCrCrArGrUrCrCrUrGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6561	MG3-6-HPRT-sgRNA-E2	mG*mU*mA*rArGrArArUrGrCrCrArGrCrCrCrCrCrArGrGrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6562	MG3-6-HPRT-sgRNA-F2	mA*mA*mG*rCrArGrUrArArGrArArUrGrCrCrArGrCrCrCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6563	MG3-6-HPRT-sgRNA-G2	mG*mC*mU*rGrGrCrArUrUrCrUrUrArCrUrGrCrUrUrGrCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6564	MG3-6-HPRT-sgRNA-H2	mU*mG*mC*rUrUrGrCrUrGrArGrGrGrCrCrArGrArUrGrArUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6565	MG3-6-HPRT-sgRNA-A3	mA*mU*mA*rGrArUrUrCrCrArGrArArUrArUrCrUrCrCrArUrGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6566	MG3-6-HPRT-sgRNA-B3	mU*mG*mA*rCrArGrUrArUrUrGrCrArGrUrUrArUrArCrArUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6567	MG3-6-HPRT-sgRNA-C3	mC*mG*mA*rArArArGrUrArArUrGrUrArArUrCrUrCrArUrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6568	MG3-6-HPRT-sgRNA-D3	mG*mG*mA*rUrUrArUrArUrCrUrUrArArGrUrCrUrUrArUrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6569	MG3-6-HPRT-sgRNA-E3	mA*mA*mC*rArCrArUrGrArCrArArArArUrUrArUrUrUrArArGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6570	MG3-6-HPRT-sgRNA-F3	mG*mU*mU*rUrGrUrCrCrUrGrArArUrArGrCrArUrGrGrCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6571	MG3-6-HPRT-sgRNA-G3	mC*mU*mG*rArArUrArGrCrArUrGrGrCrArGrArGrGrArUrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr

[0610]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6572	MG3-6-HPRT-sgRNA-H3	mA*mU*mC*rCrUrUrArUrUrCrUrUrArArUrUrUrUrGrCrArArGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6573	MG3-6-HPRT-sgRNA-A4	mG*mC*mC*rCrCrCrUrUrGrCrArArArArUrUrArArGrArArUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6574	MG3-6-HPRT-sgRNA-B4	mG*mG*mU*rGrArGrGrArArGrUrGrArUrArGrGrArArGrGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6575	MG3-6-HPRT-sgRNA-C4	mG*mU*mG*rArUrArGrGrArArGrGrGrGrUrGrGrGrCrCrCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6576	MG3-6-HPRT-sgRNA-D4	mG*mG*mA*rArGrGrGrGrUrGrGrGrCrCrCrUrGrArArGrArUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6577	MG3-6-HPRT-sgRNA-E4	mA*mA*mU*rUrCrCrArGrGrArGrGrUrCrCrArGrArUrCrUrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6578	MG3-6-HPRT-sgRNA-F4	mU*mC*mA*rUrCrArCrUrCrArArUrUrCrCrArGrGrArGrGrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6579	MG3-6-HPRT-sgRNA-G4	mC*mA*mG*rCrArUrUrCrArUrCrArCrUrCrArArUrUrCrCrArGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6580	MG3-6-HPRT-sgRNA-H4	mC*mA*mG*rCrArUrArGrGrUrArArGrGrUrGrArGrGrArGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6581	MG3-6-HPRT-sgRNA-A5	mA*mC*mA*rUrArArArArArCrUrGrCrArGrArCrUrGrArUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6582	MG3-6-HPRT-sgRNA-B5	mA*mC*mC*rUrGrArCrCrCrCrUrArCrArUrArArArArArCrUrGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC

[0611]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		rGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6583	MG3-6-HPRT-sgRNA-C5	mG*mA*mU*rCrArGrUrCrUrGrCrArGrUrUrUrUrUrArUrGrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6584	MG3-6-HPRT-sgRNA-D5	mU*mC*mU*rGrCrUrUrUrUrUrCrCrUrArArGrUrGrArUrUrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6585	MG3-6-HPRT-sgRNA-E5	mA*mC*mA*rGrArUrArCrCrGrUrGrArUrUrUrUrUrUrCrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6586	MG3-6-HPRT-sgRNA-F5	mA*mC*mU*rGrCrUrGrArCrArUrArUrGrArCrUrCrArCrUrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6587	MG3-6-HPRT-sgRNA-G5	mC*mA*mU*rArUrGrUrCrArGrCrArGrUrUrUrGrArCrUrGrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6588	MG3-6-HPRT-sgRNA-H5	mU*mA*mU*rCrArGrUrGrArGrUrUrUrUrUrCrUrUrUrUrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6589	MG3-6-HPRT-sgRNA-A6	mG*mC*mU*rUrArUrUrUrUrUrCrUrArCrArUrGrCrUrCrUrUrGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6590	MG3-6-HPRT-sgRNA-B6	mU*mU*mA*rArArUrGrUrCrArArCrCrUrArCrUrGrUrGrGrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6591	MG3-6-HPRT-sgRNA-C6	mG*mA*mG*rGrArUrUrArArArGrUrCrUrArUrGrCrCrArCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6592	MG3-6-HPRT-sgRNA-D6	mA*mA*mG*rArArCrArArCrArArArArGrArArUrArCrCrCrArGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6593	MG3-6-HPRT-sgRNA-E6	mU*mG*mG*rUrArUrArUrGrCrUrGrUrGrGrArArUrUrGrArGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0612]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6594	MG3-6-HPRT-sgRNA-F6	mG*mA*mG*rArUrArGrArCrUrGrGrUrUrCrGrUrGrArGrCrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU	
6595	MG3-6-HPRT-sgRNA-G6	mG*mU*mA*rGrGrArCrArUrGrCrUrCrArArArCrArArUrArCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU	
6596	MG3-6-HPRT-sgRNA-H6	mA*mU*mU*rArArGrCrArGrCrUrGrCrUrCrArCrUrArCrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU	
6597	MG3-6-HPRT-sgRNA-A7	mG*mA*mG*rArUrGrGrArGrCrUrUrUrArUrUrArArArCrArUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU	
6598	MG3-6-HPRT-sgRNA-B7	mG*mA*mA*rCrUrCrArGrCrArCrUrUrCrArUrArUrGrCrCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU	
6599	MG3-6-HPRT-sgRNA-C7	mU*mG*mA*rGrUrUrCrUrCrUrUrGrArArCrUrCrCrUrArArUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU	
6600	MG3-6-HPRT-sgRNA-D7	mA*mU*mU*rCrCrUrGrArGrUrUrCrArGrGrUrArGrGrGrArGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU	
6601	MG3-6-HPRT-sgRNA-E7	mU*mA*mU*rArUrArUrGrUrUrUrArArArGrArGrCrUrGrGrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU	
6602	MG3-6-HPRT-sgRNA-F7	mG*mG*mU*rArUrGrArArArGrCrArUrArArGrUrUrUrUrCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU	
6603	MG3-6-HPRT-sgRNA-G7	mU*mG*mA*rGrArCrUrGrCrCrUrUrUrArArCrArUrCrUrGrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU	
6604	MG3-6-HPRT-sgRNA-H7	mA*mA*mU*rArUrUrUrUrUrCrArArCrArGrGrCrArGrCrArUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU	
6605	MG3-6-HPRT-sgRNA-A8	mC*mU*mC*rCrCrArCrArCrCrCrUrUrUrUrArUrArGrUrUrUrGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG	

[0613]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6606	MG3-6-HPRT-sgRNA-B8	mU*mA*mU*rArGrUrUrUrArGrGrGrArUrUrGrUrArUrUrUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6607	MG3-6-HPRT-sgRNA-C8	mA*mG*mG*rGrArUrUrGrUrArUrUrUrCrCrArArGrGrUrUrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6608	MG3-6-HPRT-sgRNA-D8	mA*mG*mU*rGrUrCrArArUrGrArGrCrArArArGrArUrGrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6609	MG3-6-HPRT-sgRNA-E8	mC*mC*mA*rUrUrGrArArGrGrGrGrArArGrCrUrArArUrArArGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6610	MG3-6-HPRT-sgRNA-F8	mU*mG*mG*rArCrArCrArUrGrGrGrUrArGrUrCrArGrGrGrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6611	MG3-6-HPRT-sgRNA-G8	mC*mC*mU*rGrGrArArCrCrUrGrArArGrGrArCrArGrUrUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6612	MG3-6-HPRT-sgRNA-H8	mG*mU*mG*rCrArGrGrUrCrUrCrArGrArArCrUrGrUrCrCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6613	MG3-6-HPRT-sgRNA-A9	mA*mU*mG*rArArArUrGrGrArGrArGrCrUrArArArUrUrArUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6614	MG3-6-HPRT-sgRNA-B9	mG*mU*mC*rArCrUrUrUrUrArArCrArCrArCrCrCrArArGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6615	MG3-6-HPRT-sgRNA-C9	mU*mA*mG*rArGrArGrGrCrArCrArUrUrUrGrCrCrArGrUrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
화학적 변형에 대한 참고 사항: m = 2'O-메틸 리보뉴클레오티드(예를 들어, mC = 2' 히드록실 대신 2'-O 메틸을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); f = 2'-플루오로 리보뉴클레오티드(예를 들어, fC = 2' 히드록실 대신 2' 플루오린을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); * = 포스포로티오에이트 결합; r: 당 리보오스를		

[0614]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
포함하는 천연 RNA 결합(예를 들어, A 염기의 리보오스 또는 RNA 형태는 rA 로 기록됨), d: 데옥시리보오스 당(DNA) 결합(예를 들어, A 염기의 데옥시리보오스 형태는 dA 로 기록됨)		

[0615]

[0616] 표 3B:

예 9 에서 표적화된 부위

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6616	MG3-6-HPRT-표적 부위-A1	TTCCTCTGCATCAGTTTTAATG
6617	MG3-6-HPRT-표적 부위-B1	GTGGGCTTGTGTTCTAAAGGAG
6618	MG3-6-HPRT-표적 부위-C1	AGGAGTGAGATTGGTTTTTTGT
6619	MG3-6-HPRT-표적 부위-D1	TAAAAAATAATATTTATAATTT
6620	MG3-6-HPRT-표적 부위-E1	GAGTATTTTTATTGAAAAGCAT
6621	MG3-6-HPRT-표적 부위-F1	AAAAATATTTTCCCTAACAAAG
6622	MG3-6-HPRT-표적 부위-G1	ATCTCAGCTATTTAGTCAAAAG
6623	MG3-6-HPRT-표적 부위-H1	GTCCTACTTTTGACTAAATAGC
6624	MG3-6-HPRT-표적 부위-A2	AACTCTCCAATATAGGTGGCTA
6625	MG3-6-HPRT-표적 부위-B2	ATTTTTCCCATAAATTCAAGAT
6626	MG3-6-HPRT-표적 부위-C2	CCAGGACTGGATTTTGTAGGTG
6627	MG3-6-HPRT-표적 부위-D2	TGCACCTACAAAATCCAGTCCT
6628	MG3-6-HPRT-표적 부위-E2	GTAAGAATGCCAGCCCCCAGGA
6629	MG3-6-HPRT-표적 부위-F2	AAGCAGTAAGAATGCCAGCCCC
6630	MG3-6-HPRT-표적 부위-G2	GCTGGCATTCTTACTGCTTGCT
6631	MG3-6-HPRT-표적 부위-H2	TGCTTGCTGAGGGCCAGATGAT
6632	MG3-6-HPRT-표적 부위-A3	ATAGATTCCAGAATATCTCCAT
6633	MG3-6-HPRT-표적 부위-B3	TGACAGTATTGCAGTTATACAT
6634	MG3-6-HPRT-표적 부위-C3	CGAAAAGTAATGTAATCTCATA
6635	MG3-6-HPRT-표적 부위-D3	GGATTATATCTTAAGTCTTATA
6636	MG3-6-HPRT-표적 부위-E3	AACACATGACAAAATTATTTAA
6637	MG3-6-HPRT-표적 부위-F3	GTTTGTCCTGAATAGCATGGCA
6638	MG3-6-HPRT-표적 부위-G3	CTGAATAGCATGGCAGAGGATT
6639	MG3-6-HPRT-표적 부위-H3	ATCCTTATTCTTAATTTTGCAA
6640	MG3-6-HPRT-표적 부위-A4	GCCCCCTTGCAAAATTAAGAAT
6641	MG3-6-HPRT-표적 부위-B4	GGTGAGGAAGTGATAGGAAGGG
6642	MG3-6-HPRT-표적 부위-C4	GTGATAGGAAGGGGTGGGCCCT
6643	MG3-6-HPRT-표적 부위-D4	GGAAGGGGTGGGCCCTGAAGAT
6644	MG3-6-HPRT-표적 부위-E4	AATTCCAGGAGGTCCAGATCTT
6645	MG3-6-HPRT-표적 부위-F4	TCATCACTCAATTCCAGGAGGT
6646	MG3-6-HPRT-표적 부위-G4	CAGCATTCATCACTCAATTCCA
6647	MG3-6-HPRT-표적 부위-H4	CAGCATAGGTAAGGTGAGGAGG
6648	MG3-6-HPRT-표적 부위-A5	ACATAAAAACTGCAGACTGATC
6649	MG3-6-HPRT-표적 부위-B5	ACCTGACCCCTACATAAAAACT
6650	MG3-6-HPRT-표적 부위-C5	GATCAGTCTGCAGTTTTTATGT
6651	MG3-6-HPRT-표적 부위-D5	TCTGCTTTTTCCTAAGTGATTA
6652	MG3-6-HPRT-표적 부위-E5	ACAGATACCGTGATTTTTTCAA
6653	MG3-6-HPRT-표적 부위-F5	ACTGCTGACATATGACTCACTA
6654	MG3-6-HPRT-표적 부위-G5	CATATGTCAGCAGTTTGACTGT
6655	MG3-6-HPRT-표적 부위-H5	TATCAGTGAGTTTTTCTTTTAA
6656	MG3-6-HPRT-표적 부위-A6	GCTTATTTTTCTACATGCTCTT

[0617]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6657	MG3-6-HPRT-표적 부위-B6	TTAAATGTCAACCTACTGTGGC
6658	MG3-6-HPRT-표적 부위-C6	GAGGATTAAAGTCTATGCCACA
6659	MG3-6-HPRT-표적 부위-D6	AAGAACAACAAAAGAATACCCA
6660	MG3-6-HPRT-표적 부위-E6	TGGTATATGCTGTGGAATTGAG
6661	MG3-6-HPRT-표적 부위-F6	GAGATAGACTGGTTCGTGAGCG
6662	MG3-6-HPRT-표적 부위-G6	GTAGGACATGCTCAAACAATAC
6663	MG3-6-HPRT-표적 부위-H6	ATTAAGCAGCTGCTCACTACAA
6664	MG3-6-HPRT-표적 부위-A7	GAGATGGAGCTTTATTAAACAT
6665	MG3-6-HPRT-표적 부위-B7	GAACTCAGCACTTCATATGCCT
6666	MG3-6-HPRT-표적 부위-C7	TGAGTTCTCTTGAACTCCTAAT
6667	MG3-6-HPRT-표적 부위-D7	ATTCCTGAGTTCAGGTAGGGAG
6668	MG3-6-HPRT-표적 부위-E7	TATATATGTTTAAAGAGCTGGA
6669	MG3-6-HPRT-표적 부위-F7	GGTATGAAAGCATAAGTTTTCT
6670	MG3-6-HPRT-표적 부위-G7	TGAGACTGCCTTTAACATCTGT
6671	MG3-6-HPRT-표적 부위-H7	AATATTTTTCAACAGGCAGCAT
6672	MG3-6-HPRT-표적 부위-A8	CTCCCACACCCTTTTATAGTTT
6673	MG3-6-HPRT-표적 부위-B8	TATAGTTTAGGGATTGTATTTC
6674	MG3-6-HPRT-표적 부위-C8	AGGGATTGTATTTCCAAGGTTT
6675	MG3-6-HPRT-표적 부위-D8	AGTGTCAATGAGCAAAGATGAA
6676	MG3-6-HPRT-표적 부위-E8	CCATTGAAGGGGAGCTAATAAG
6677	MG3-6-HPRT-표적 부위-F8	TGGACACATGGGTAGTCAGGGT
6678	MG3-6-HPRT-표적 부위-G8	CCTGGAACCTGAAGGACAGTTC
6679	MG3-6-HPRT-표적 부위-H8	GTGCAGGTCTCAGAACTGTCCT
6680	MG3-6-HPRT-표적 부위-A9	ATGAAATGGAGAGCTAAATTAT
6681	MG3-6-HPRT-표적 부위-B9	GTCACTTTTAACACACCCAAGG
6682	MG3-6-HPRT-표적 부위-C9	TAGAGAGGCACATTTGCCAGTA

[0618]

[0619] **예 10 - 인간 TRBC1/2에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0620] 제조사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. MG3-6 또는 MG3-8 RNP(106 pmol 단백질/160 pmol 가이드)(MG3-6: 서열번호 6683-6721; MG3-8: 서열번호 6761-6781)의 핵감염을 Lonza 4D 전기천공기를 사용하여 T 세포(200,000) 내로 수행하였다. 유세포 계측법에 의한 분석을 위해, 핵감염 후 3일차에, 항-CD3 항체로 100,000개의 T 세포를 4℃에서 30분 동안 염색하고, Attune Nxt 유세포 계측기를 이용해 분석하였다(**도 4**).

[0621] 표 4A:

예 10 에 사용된 가이드 서열

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6683	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-A6	mA*mG*mG*rUrCrCrUrCrUrGrGrArArArGrGrGrArArGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6684	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-B6	mC*mA*mG*rGrUrCrCrUrCrUrGrGrArArArGrGrGrArArGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6685	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-C6	mC*mC*mA*rCrArCrUrGrGrUrGrUrGrCrCrUrGrGrCrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6686	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-D6	mG*mA*mA*rUrGrGrGrArArGrGrArGrGrUrGrCrArCrArGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6687	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-E6	mU*mG*mA*rGrGrGrCrGrGrGrCrUrGrCrUrCrCrUrUrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6688	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-F6	mA*mG*mU*rArUrCrUrGrGrArGrUrCrArUrUrGrArGrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6689	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-G6	mA*mU*mA*rCrUrGrCrCrUrGrArGrCrArGrCrCrGrCrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6690	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-H6	mU*mU*mG*rArCrArGrCrGrGrArArGrUrGrGrUrUrGrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6691	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-A7	mC*mU*mU*rGrArCrArGrCrGrGrArArGrUrGrGrUrUrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6692	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-B7	mC*mC*mG*rCrUrGrUrCrArArGrUrCrCrArGrUrUrCrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6693	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-C7	mU*mC*mG*rGrArGrArArUrGrArCrGrArGrUrGrGrArCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0622]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6694	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-D7	mC*mA*mG*rArUrCrGrUrCrArGrCrGrCrCrGrArGrGrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6695	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-E7	mC*mG*mG*rCrGrCrUrGrArCrGrArUrCrUrGrGrGrUrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6696	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-F7	mG*mC*mC*rArArCrArGrUrGrUrCrCrUrArCrCrArGrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6697	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-G7	mC*mU*mU*rCrCrCrUrArGrCrArGrGrArUrCrUrCrArUrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6698	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-H7	mA*mU*mA*rCrArGrGrGrUrGrGrCrCrUrUrCrCrCrUrArGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6699	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-A8	mG*mG*mC*rGrCrUrGrArCrCrArGrCrArCrArGrCrArUrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6700	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-B8	mU*mC*mU*rCrUrUrCrUrGrCrArGrGrUrCrArArGrArGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6701	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-C8	mC*mC*mU*rGrCrArGrArArGrArGrArArArGrUrUrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6702	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-D8	mA*mC*mC*rUrGrCrArGrArArArGrArGrArArArGrUrUrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6703	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-E8	mC*mC*mA*rCrArCrUrGrGrUrGrUrGrCrCrUrGrGrCrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6704	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-F8	mA*mC*mC*rArGrCrUrCrArGrCrUrCrCrArCrGrUrGrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6705	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-G8	mG*mA*mA*rUrGrGrGrArArGrGrArGrGrUrGrCrArCrArGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG

[0623]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6706	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-H8	mU*mG*mA*rGrGrGrCrGrGrGrCrUrGrCrUrCrCrUrUrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6707	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-A9	mA*mG*mU*rArUrCrUrGrGrArGrUrCrArUrUrGrArGrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6708	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-B9	mA*mU*mA*rCrUrGrCrCrUrGrArGrCrArGrCrCrGrCrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6709	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-C9	mU*mU*mG*rArCrArGrCrGrGrArArGrUrGrGrUrUrGrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6710	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-D9	mC*mU*mU*rGrArCrArGrCrGrGrArArGrUrGrGrUrUrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6711	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-E9	mC*mC*mG*rCrUrGrUrCrArArGrUrCrCrArGrUrUrCrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6712	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-F9	mU*mC*mG*rGrArGrArArUrGrArCrGrArGrUrGrGrArCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6713	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-G9	mC*mA*mG*rArUrCrGrUrCrArGrCrGrCrCrGrArGrGrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6714	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-H9	mC*mG*mG*rCrGrCrUrGrArCrGrArUrCrUrGrGrGrUrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6715	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-A10	mG*mU*mC*rArArCrArGrArGrUrCrUrUrArCrCrArGrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6716	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-B10	mC*mU*mU*rCrCrCrUrArGrCrArArGrArUrCrUrCrArUrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr

[0624]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6717	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-C10	mG*mC*mU*rGrArUrGrGrCrCrArUrGrGrUrArArGrGrArGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6718	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-D10	mU*mG*mU*rGrGrArArGrArGrArGrArArCrArUrUrUrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6719	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-E10	mC*mU*mG*rUrGrGrArArGrArGrArGrArArCrArUrUrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6720	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-F10	mU*mC*mU*rCrUrUrCrCrArCrArGrGrUrCrArArGrArGrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6721	MG3-6-TRBC1/2-sgRNA-G10	mA*mG*mG*rUrCrArArGrArGrArArArGrGrArUrUrCrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArG rGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCr ArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrG rGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6761	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-D3	mA*mG*mG*rUrCrCrUrCrUrGrGrArArArGrGrGrArArGrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6762	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-E3	mC*mU*mG*rArArCrArArGrGrUrGrUrUrCrCrCrArCrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6763	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-F3	mC*mU*mC*rGrGrGrUrGrGrGrArArCrArCrCrUrUrGrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6764	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-G3	mA*mA*mU*rGrGrGrArArGrGrArGrGrUrGrCrArCrArGrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6765	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-H3	mG*mG*mG*rCrUrGrCrUrCrCrUrUrGrArGrGrGrGrCrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6766	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-A4	mU*mA*mC*rUrGrCrCrUrGrArGrCrArGrCrCrGrCrCrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0625]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6767	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-B4	mU*mU*mG*rArCrArGrCrGrGrArArGrUrGrGrUrUrGrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6768	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-C4	mG*mU*mG*rArCrGrGrGrUrUrUrGrGrCrCrCrUrArUrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6769	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-D4	mC*mG*mG*rCrGrCrUrGrArCrGrArUrCrUrGrGrGrUrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6770	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-E4	mC*mC*mA*rArCrArGrUrGrUrCrCrUrArCrCrArGrCrArGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6771	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-F4	mC*mC*mU*rGrCrArGrArArGrArGrArArArGrUrUrUrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6772	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-G4	mC*mU*mG*rArArArArArCrGrUrGrUrUrCrCrCrArCrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6773	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-H4	mC*mU*mU*rGrGrGrUrGrGrGrArArCrArCrGrUrUrUrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6774	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-A5	mA*mA*mU*rGrGrGrArArGrGrArGrGrUrGrCrArCrArGrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6775	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-B5	mG*mG*mG*rCrUrGrCrUrCrCrUrUrGrArGrGrGrGrCrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6776	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-C5	mU*mA*mC*rUrGrCrCrUrGrArGrCrArGrCrCrGrCrCrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6777	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-D5	mU*mU*mG*rArCrArGrCrGrGrArArGrUrGrGrUrUrGrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6778	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-E5	mG*mU*mG*rArCrArGrGrUrUrUrGrGrCrCrCrUrArUrCrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC

[0626]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6779	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-F5	mC*mG*mG*rCrGrCrUrGrArCrGrArUrCrUrGrGrGrUrGrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6780	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-G5	mU*mC*mA*rArCrArGrArGrUrCrUrUrArCrCrArGrCrArGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6781	MG3-8-TRBC1/2-sgRNA-H5	mU*mG*mU*rGrGrArArGrArGrArGrArArCrArUrUrUrUrGrUr UrGrArGrArArUrCrUrUrUrCrGrArArArGrArArArGrArUrUrC rUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUr GrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrGrCrUrCrCrUrCrUrU rArGrGrArArCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
화학적 변형에 대한 참고 사항: m = 2'O-메틸 리보뉴클레오티드(예를 들어, mC = 2' 히드록실 대신 2'-O 메틸을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); f = 2'-플루오로 리보뉴클레오티드(예를 들어, fC = 2' 히드록실 대신 2' 플루오린을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); * = 포스포로티오에이트 결합; r: 당 리보오스를 포함하는 천연 RNA 결합(예를 들어, A 염기의 리보오스 또는 RNA 형태는 rA 로 기록됨), d: 데옥시리보오스 당(DNA) 결합(예를 들어, A 염기의 데옥시리보오스 형태는 dA 로 기록됨)		

[0627]

[0628] 표 4B:

예 10 에서 표적화된 부위

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6722	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-A6	AGGTCCTCTGGAAAGGGAAG
6723	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-B6	CAGGTCCTCTGGAAAGGGAA
6724	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-C6	CCACACTGGTGTGCCTGGCC
6725	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-D6	GAATGGGAAGGAGGTGCACA
6726	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-E6	TGAGGGCGGGCTGCTCCTTG
6727	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-F6	AGTATCTGGAGTCATTGAGG
6728	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-G6	ATACTGCCTGAGCAGCCGCC
6729	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-H6	TTGACAGCGGAAGTGGTTGC
6730	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-A7	CTTGACAGCGGAAGTGGTTG
6731	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-B7	CCGCTGTCAAGTCCAGTTCT
6732	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-C7	TCGGAGAATGACGAGTGGAC
6733	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-D7	CAGATCGTCAGCGCCGAGGC
6734	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-E7	CGGCGCTGACGATCTGGGTG
6735	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-F7	GCCAACAGTGTCCTACCAGC
6736	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-G7	CTTCCCTAGCAGGATCTCAT
6737	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-H7	ATACAGGGTGGCCTTCCCTA
6738	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-A8	GGCGCTGACCAGCACAGCAT
6739	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-B8	TCTCTTCTGCAGGTCAAGAG
6740	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-C8	CCTGCAGAAGAGAAAGTTTT
6741	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-D8	ACCTGCAGAAGAGAAAGTTT
6742	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-E8	CCACACTGGTGTGCCTGGCC
6743	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-F8	ACCAGCTCAGCTCCACGTGG
6744	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-G8	GAATGGGAAGGAGGTGCACA
6745	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-H8	TGAGGGCGGGCTGCTCCTTG
6746	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-A9	AGTATCTGGAGTCATTGAGG
6747	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-B9	ATACTGCCTGAGCAGCCGCC
6748	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-C9	TTGACAGCGGAAGTGGTTGC
6749	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-D9	CTTGACAGCGGAAGTGGTTG
6750	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-E9	CCGCTGTCAAGTCCAGTTCT
6751	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-F9	TCGGAGAATGACGAGTGGAC
6752	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-G9	CAGATCGTCAGCGCCGAGGC
6753	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-H9	CGGCGCTGACGATCTGGGTG
6754	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-A10	GTCAACAGAGTCTTACCAGC
6755	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-B10	CTTCCCTAGCAAGATCTCAT
6756	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-C10	GCTGATGGCCATGGTAAGGA
6757	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-D10	TGTGGAAGAGAGAACATTTT
6758	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-E10	CTGTGGAAGAGAGAACATTT
6759	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-F10	TCTCTTCCACAGGTCAAGAG
6760	MG3-6-TRBC1/2-표적 부위-G10	AGGTCAAGAGAAAGGATTCC
6782	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-D3	AGGTCCTCTGGAAAGGGAAG
6783	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-E3	CTGAACAAGGTGTTCCCACC

[0629]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6784	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-F3	CTCGGGTGGGAACACCTTGT
6785	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-G3	AATGGGAAGGAGGTGCACAG
6786	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-H3	GGGCTGCTCCTTGAGGGGCT
6787	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-A4	TACTGCCTGAGCAGCCGCCT
6788	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-B4	TTGACAGCGGAAGTGGTTGC
6789	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-C4	GTGACGGGTTTGGCCCTATC
6790	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-D4	CGGCGCTGACGATCTGGGTG
6791	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-E4	CCAACAGTGTCCTACCAGCA
6792	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-F4	CCTGCAGAAGAGAAAGTTTT
6793	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-G4	CTGAAAAACGTGTTCCCACC
6794	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-H4	CTTGGGTGGGAACACGTTTT
6795	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-A5	AATGGGAAGGAGGTGCACAG
6796	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-B5	GGGCTGCTCCTTGAGGGGCT
6797	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-C5	TACTGCCTGAGCAGCCGCCT
6798	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-D5	TTGACAGCGGAAGTGGTTGC
6799	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-E5	GTGACAGGTTTGGCCCTATC
6800	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-F5	CGGCGCTGACGATCTGGGTG
6801	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-G5	TCAACAGAGTCTTACCAGCA
6802	MG3-8-TRBC1/2-표적 부위-H5	TGTGGAAGAGAGAACATTTT

[0630]

[0631] 예 11 - mRNA 형질감염을 사용한 마우스 HAO-1 유전자에 대한 MG3-6 가이드 스크리닝

[0632] MG3-6에 대한 가이드를 적절한 PAM 서열을 검색하는 가이드-찾기 알고리즘을 사용하여 인간 HAO1 유전자의 엑손 1, 2, 3 및 4에서 식별하였다. 포유류 세포에서의 평가를 위해 총 19개의 가이드를 선택하였다. 다음과 같이 300 ng mRNA 및 120 ng 단일 가이드 RNA를 Hepa1-6 세포 내로 형질감염시켰다. 형질감염 하루 전에, 페니실린/스트렙토마이신이 없고 DMEM, 10% FBS, 1xNEAA 배지에서 10일 미만 동안 배양한 Hepa1-6 세포를 TC-처리한 24 웰 플레이트 내에 플레이팅하였다. 세포를 계수하고, 60,000개의 생존 세포에 해당하는 부피를 각 웰에 첨가하였다. 추가의 사전 평형화된 배지를 각 웰에 첨가하여 총 부피를 500 μL로 만들었다. 형질감염 당일에, 25 μL의 OptiMEM 배지 및 1.25 ul의 Lipofectamine Messenger Max 용액(Thermo Fisher)을 마스터믹스 용액에서 혼합하고, 와동시키고, 실온에서 적어도 5분 동안 방치하였다. 별도의 튜브에서, 300 ng의 MG3-6 mRNA 및 120 ng의 sgRNA를 25 μL의 OptiMEM 배지와 함께 혼합하고, 잠깐 동안 와동시켰다. 적절한 부피의 MessengerMax 용액을 각각의 RNA 용액에 첨가하고, 튜브를 가볍게 흔들어 혼합하고, 저속으로 잠깐 회전시켰다. 완전한 편집 시약 용액을 실온에서 10분 동안 인큐베이션한 다음, Hepa1-6 세포에 직접 첨가하였다. 형질감염 후 2일차에, Hepa1-6 세포의 각 웰로부터 배지를 흡인하고, MagMAX™ DNA Multi-Sample Ultra 2.0 키트가 구비된 KingFisher Flex를 통해 자동화된 자기 비드 정제에 의해 게놈 DNA를 정제하였다. 가이드의 활성은 표 5A5및 도 5에 요약되어 있고, 사용된 프라이머는 표 5B에 요약되어 있다.

[0633] 표 5A:

mRNA 형질감염에 의해 전달된 마우스 HAO1 에서 MG3-6 가이드의 평균 활성

가이드 명칭	PAM	서열 번호	스페이서 서열	활성 편집 (평균 INDEL (%))
mH36-1	GCAGACC	11802	CATGCTGTTCATAATCACTGAT	0
mH36-2	ACAGGTC	11803	CAGAAGTCAGTGTATGACTATT	12.5
mH36-3	CCAGACC	11804	TAACGTCTCCTGATCATTTGCC	0
mH36-4	ACAGATC	11805	CTCTGTCCTAAAACAGAAGTTG	25
mH36-5	TGGGGCT	11806	GAGTCAGCATGCCAATATGTGT	33.5
mH36-6	TCAGACC	11807	TTCTCCATTTCATTACAGCCTG	0
mH36-7	ACAGGCT	11808	TCATGCCAGTTCCCATGGTCTG	0
mH36-8	TTGGGCT	11809	GAACTGGCATGATGCTGAGTTC	5
mH36-9	CTGGGCC	11810	AGTTGCATCCAGCGAAGTGCCT	28
mH36-10	AAAGACC	11811	CTGGATGCAACTGTACATCTAC	0
mH36-11	TGAGATC	11812	AACTGTACATCTACAAAGACCG	0
mH36-12	CAGGGTT	11813	GATAGTGAAGCGAGCTGAGAAG	45.5
mH36-13	CAAGGCC	11814	AGCGAGCTGAGAAGCAGGGTTA	27.5
mH36-14	ACAGGTT	11815	AACCGCATTGATGACGTGCGGA	0
mH36-15	TCAGGTC	11816	AGGTTCAAGCTGCCACCACAAC	41.5
mH36-16	GTGGACT	11817	AAGGGAAATTTTGGAGACAACA	0
mH36-17	ATAGACC	11818	TGCTGAATATGTGGCACAAGCT	0
mH36-18	ATGGGTC	11819	GTAATATCATCCCAGCTGAGAG	35
mH36-19	AGAGGTT	11820	TATTGTTGTAAAGGGCATTTTG	21

[0634]

[0635] 표 5B:

마우스 HAO1 유전자용으로 설계되어, 첫 4 개의 엑손 각각에서의 PCR 및 생거 시퀀싱에 사용되는 프라이머

표적 엑손	용도	프라이머 명칭	서열번호	프라이머 서열
마우스 HAO1 엑손 1	순방향 PCR	PCR_mHE1_F_+233	11821	GTGACCAACCCTACCCGTTT
	역방향 PCR	PCR_mHE1_R_-553	11822	GCAAGCACCTACTGTCTCGT
	시퀀싱	Seq_mHE1_F_+139	11823	GTCTAGGCATACAATGTTTGCTCA
마우스 HAO1 엑손 2	순방향 PCR	HAO1_E2_F5721	11824	CAACGAAGGTTCCCTCCAGG
	역방향 PCR	HAO1_E2_R6271	11825	GGAAGGGTGTTCGAGAAGGA
	시퀀싱	5938F Seq_HAO1_E2	11826	CTATGCAAGGAAAAGATTTGGCC
마우스 HAO1 엑손 3	순방향 PCR	HAO1_E3_F23198	11827	TGCCCTAGACAAGCTGACAC
	역방향 PCR	HAO1_E3_R23879	11828	CAGATTCTGGAAGTGGCCCA
	시퀀싱	HAO1_E3_F23198	11827	순방향PCR 프라이머와 동일함
마우스 HAO1 엑손 4	순방향 PCR	PCR_mHE4_F_+300	11829	GGCTGGCTGAAAATAGCATCC
	역방향 PCR	HAO1_E4_R31650	11830	AGGTTTGGTTCCCCTCACCT
	시퀀싱	PCR_mHE4_R_-149	11831	TCTGCCATGAAGGCATATGGAC

[0636]

[0637] **예 12 - MG3-6 II형 뉴클레아제에 대한 가이드 화학물질의 최적화(예측)**

[0638] 다양한 화학적으로 변형된 가이드를 활성에 대해 설계하고 시험한다. 마우스 간세포(Hepa1-6 세포)의 가이드 스크린에서 가장 활성인 가이드 - 알부민 인트론 1을 표적화하는 것은 다양한 화학적 변형을 삽입하기 위한 스페이서 서열 모델로서 선택된다. gRNA는 5'에 위치한 스페이서 다음에 CRISPR 반복 및 트랜스-활성화 CRISPR RNA(tracr)를 포함한다. CRISPR 반복 및 tracr은 MG3-6과 동일하다. CRISPR 반복 및 tracr은 3개의 줄기 루프를 포함하는 구조화된 RNA를 형성한다. 리보오스의 2' 하이드록실을 2'-O-메틸기로 치환하거나 포스포디에스테르 백본을 포스포로티오에이트(PS) 결합으로 치환함으로써 줄기 루프의 상이한 영역을 변형시켰다. 또한, 가이드의 5' 내의 스페이서를 2'-O-메틸, PS 결합, 및 2'-플루오로를 첨가함으로써 변형시킨다. 염기 서열은 동일하지만 화학적 변형은 상이한 가이드의 편집 활성을, MG3-6 및 가이드를 암호화하는 mRNA의 공동 형질감염에 의해 Hepa1-6 세포에서 평가하였다. 동일한 염기 서열 및 AltR1/AltR2로 불리는 상업적으로 이용가능한 화학적 변형을 갖는 가이드를 대조군으로서 사용하였다. 이들 가이드 내의 스페이서 서열은 마우스 게놈의 알부민 인트론1 내의 22개 뉴클레오티드 영역을 표적화한다.

[0639] 화학적 변형이 없는 가이드(천연 RNA)와 비교하여화학적으로 변형된 가이드의 안정성을 시험하기 위해, 세포 미정제 추출물을 사용하여 안정성 검정을 사용하였다. 포유류 세포 유래의 미정제 세포 추출물을 선택한 이유는, 가이드 RNA가 시험관 내 또는 생체 내에서 포유류 세포에 전달될 때 이들 가이드 RNA가 노출될 뉴클레아제의 혼합물을 이들 미정제 세포 추출물이 함유하고 있기 때문이다. 15 cm의 컨플루언트 세포 접시 하나당 3 ml의 차가운 PBS를 첨가하고, 세포 스크래퍼를 사용하여 접시 표면으로부터 세포를 방출시켜 Hepa 1-6 세포를 수집하였다. 세포를 200 g에서 10분 동안 펠릿화하고, 향후 사용을 위해 -80℃에서 동결시켰다. 안정성 검정을 위해, 세포를 4 부피의 차가운 PBS에 재현탁시켰다(예를 들어, 100 mg 펠릿의 경우, 세포를 400 ul의 차가운 PBS에 재현탁하였다). 트라이톤 X-100을 0.2% (v/v)의 농도까지 첨가하고, 세포를 10초 동안 와동시키고, 10분 동안 얼음 위에 두고, 10초 동안 다시 와동시켰다. 트라이톤 X-100은 세포막을 파괴하지만 사용된 농도에서 단백질을 불활성화하거나 변성시키지 않는 순한 비이온성 세제이다. 안정성 반응을 얼음 상에서 준비하였고, 20 μl의 세포 미정제 추출물과 2 pmol의 각 가이드(1 ul의 2 uM 모액)를 포함시켰다. 가이드별로 다음을 포함하는 6가지 반응을 설정하였다: 투입, 0.5시간, 1시간, 4시간, 9시간, 및 일부 경우에는 21시간(시간으로 표시된 시

간은 각 샘플을 인큐베이션하는 기간을 지칭함). 투입 대조군은 얼음 위에 5분 동안 방치하고, 샘플은 37 °C에서 0.5시간 내지 최대 21시간 동안 인큐베이션하였다. 각 인큐베이션 기간 후, 페놀과 구아니딘 티오시아네이트의 혼합물(Tri 시약, Zymo Research) 300 ul를 첨가하여 반응을 중단시켰는데, 이는 모든 단백질을 즉시 변성시키고, 리보뉴클레아제를 효율적으로 억제하여 이어지는 RNA의 회수를 용이하게 한다. Tri 시약을 첨가한 후, 샘플을 15초 동안 와동시키고 -20℃에서 보관한다. RNA를 Direct-zol RNA 미니프렙 키트(Zymo Research)를 사용하여 샘플로부터 추출하고 100 μL의 뉴클레아제-무함유 물에서 용리한다. 변형된 가이드의 검출은 Taqman miRNA 검정 기술(Thermo Fisher)을 사용하여 Taqman RT - qPCR을 사용하여 수행한다. 데이터는, 투입 샘플과 관련하여 남아있는 sgRNA의 백분율의 함수로서 도표화하였다.

[0640] **예 13 - T 세포에서의 mRNA 전기천공의 효율**

[0641] 제조사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. mRNA의 핵감염을 다음과 같이 수행하였다: 200,000개의 세포를 500 ng의 mRNA 및 표시된 양의 가이드 RNA로 Lonza 4D 전기천공기(DS-120)를 사용하여 공동 형질감염시켰다. 초기 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. "+gRNA"로 표지된 조건의 경우: 초기 형질감염 후 15시간차에, 표시된 양의 추가 가이드로 세포를 핵감염시켰다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 6**).

[0642] **예 14 - 기존의 항체 반응을 평가하기 위한 ELISA 검정**

[0643] MG3-6 및 MG3-8을 Expi293™ Expression System Kit(ThermoFisher Scientific)를 사용하여 인간 HEK293 세포에서 발현시키고 이로부터 정제하였다. 간략하게, 293개의 세포를 강력한 바이러스 프로모터에 의해 유도되는 뉴클레아제를 암호화하는 플라스미드로 핵감염시켰다. 세포를 교반하면서 현탁액 배양물에서 성장시키고 형질감염 후 2일차에 수확하였다. 뉴클레아제 단백질을 Six-His 친화도 태그에 융합시키고 금속-친화도 크로마토그래피로 50-60% 순도로 정제하였다. 병렬 용해물을 모의 형질감염된 세포로부터 제조하고 이를 동일한 금속 친화도 크로마토그래피 공정에 적용하였다. Cas9는 IDT로부터 구매하였으며, 이는 >95% 순도였다.

[0644] MaxiSorp® ELISA 플레이트(Thermo Scientific)를 1X 인산염 완충 식염수(PBS)에 희석된 0.5 μg의 뉴클레아제 또는 대조군 단백질로 코팅하고 실온에서 밤새 인큐베이션하였다. 그런 다음, 플레이트를 세척하고, 1%(w/v) 소혈청 알부민(BSA)(Sigma-Aldrich)/1X PBS 용액(1% BSA-PBS)과 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 또 다른 세척 단계 후, 무작위로 선택된 공여자로부터 채취한 50개 초과의 별도의 혈청 샘플(1% BSA-PBS 중 1:50 희석물)과 함께 실온에서 웰을 1시간 동안 인큐베이션하였다. 그런 다음, 플레이트를 세척하고, 1% BSA-PBS에서 1:50,000으로 희석된 과산화효소-표지된 염소 항-인간(Fcγ 단편-특이적) 이차 항체(Jackson Immuno Research)로 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 제조사의 사양에 따라, 3,3',5',5'-테트라메틸벤지딘(TMB) Liquid Substrate System 키트(Sigma-Aldrich)를 사용하여 검정을 진행하였다. 항체 역가는 450 nm에서 측정된 흡광도 값으로서 기록된다(**도 7**). 파상풍 톡소이드는 해당 항원에 대한 광범위한 백신접종으로 인해 양성 대조군으로서 사용하였으며, 이를 Sigma Aldrich로부터 구입하였다.

[0645] **예 15 - 인간 말초 혈액 B 세포에서 TRAC에 대한 DNA 및 세포-표면 단백질 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0646] 인간 말초 혈액 B 세포를 STEMCELL Technologies로부터 구매하고, 핵감염 전에 ImmunoCult™ 인간 B 세포 확장 키트를 사용하여 2일 동안 증식시켰다. Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, B 세포(200,000) 내로의 MG3-6 RNP(106 pmol 단백질/160 pmol 가이드)의 핵감염을 수행하였다. 핵감염 후, Virovek에서 공급받은 AAV-6을 함유하는 배지에서 세포를 즉시 회수하였다. 형질감염 후 5일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS 분석을 위해, NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 사용하여 TRAC 6 가이드 RNA(서열번호 6804)에 대한 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다. 유세포 계측법에 의한 분석을 위해, tLNGFR(CD271 (LNGFR) 항체, 항-인간, REAfinity™)의 발현에 의해 측정했을 때, 100,000개의 세포를 생존력, B 세포 표면 마커 CD19(CD19 단클론 항체(HIB19), APC, eBioscience™)의 발현 및 이식유전자(서열번호 6810) 삽입에 대해 염색하였다. 세포를 4℃에서 30분 동안 염색하고, Attune NxT 유세포 분석기 상에서 데이터를 수득하였다. tLNGFR을 발현하는 세포를 단일 세포, 생존 CD19+ 세포에 대해 게이팅하였다(**도 8**).

[0647] **표 6:**

예 15 에 사용된 가이드 서열

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6804	MG3-6-TRAC-sgRNA-6	mC*mG*mA*rArUrCrCrUrCrCrUrCrCrUrGrArArArGrUrGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0648]

[0649] **예 16 - 조혈 줄기 세포(HSC)의 TRAC 및 AAVS1에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0650] 동원된 말초 혈액 CD34+ 세포를 AllCells로부터 수득하고, 핵감염 전, StemSpan™ CC110 사이토카인 칵테일이 보충된 STEMCELL StemSpan™ SFEM II 배지에서 48시간 동안 배양하였다. MG3-6 RNP(표준 투여량의 경우 106 pmol 단백질/120 pmol 가이드, 절반 투여량의 경우 52 pmol 단백질/60 pmol 가이드)의 핵감염을 Lonza 4D 전기천공기를 사용하여 HSC(200,000) 내로 수행하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. Sanger 및 NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA(서열번호 6804, 6806, 및 6808)에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 NGS 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다. ICE 앰플리콘을 Sanger 시퀀싱을 위해 Elim Biopharmaceuticals Inc.로 전송하고, 독점 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 9**).

[0651] **표 7:**

실시예 16 에 사용된 가이드 서열

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6804	MG3-6-TRAC-sgRNA-6	mC*mG*mA*rArUrCrCrUrCrCrUrCrCrUrGrArArArGrUrGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6806	MG3-6-AAVS1-sgRNA-B2	mA*mG*mG*rArArUrCrUrGrCrCrUrArArCrArGrGrArGrGrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6808	MG3-6-AAVS1-sgRNA-D2	mU*mA*mG*rGrArArGrGrArGrGrGrArGrGrCrCrUrArArGrGrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0652]

[0653] **예 17 - 리보핵산 단백질로서 전달된 MG3-6에 대한 유도 만능 줄기 세포(iPSC)에서 TRAC에 대한 DNA 및 세포-표면 단백질 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0654] ATCC-BXS0116 인간 [비-히스패닉계 백인 여성] 유도 만능 줄기(IPS) 세포를 핵감염 전, 10 μM ROCK 억제제 Y-27632를 함유하는 mTESR Plus 배지(STEMCELL Technologies) 중 Corning Matrigel-코팅 플라스틱웨어 상에서 24시간 동안 배양하였다. Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, iPSC(200,000) 내로의 MG3-6 RNP(106 pmol 단백질/120 pmol 가이드)의 핵감염을 수행하였다. 형질감염 후 5일차에 유세포 계측 및 게놈 DNA 추출을 위해 Accutase로 세포를 수확하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 사용해 TRAC 6 gRNA(서열번호 6804)에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다. 유세포 계측법에 의한 분석을 위해, 핵감염 후 5일차에 샘플 당 100,000개의 iPSC를 LIVE/DEAD™ 고정가능 근-IR 사멸 세포 염색 키트 및 CD271(LNGFR) 항체, 항-인간, REAfinity™로 염색하여 생존력 및 이식유전자(서열번호 6810) 삽입을 각각 측정하였다. 세포를 고정시키고 투과화시키고(Inside Stain Kit, Miltenyi), 만능 전사 인자 Oct4 및 Sox2(항-Oct3/4 이소형 A-APC, 인간 및 마우스 REA338 1; 항-Sox2-FITC, 인간 및 마우스 REA320)에 대해 추가로 염색하였다. Attune NxT 유세포 계측기를 이용해 세포를 수득하고, 단일, 살아있는, Oct4+Sox2+ 세포에 대한 게이팅에 기초하여 tLNGFR 발현에 대해 분석하였다(**도 10**).

[0655] 표 8:

예 17 에 사용된 가이드 서열

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6804	MG3-6-TRAC-sgRNA-6	mC*mG*mA*rArUrCrCrUrCrCrUrCrCrUrGrArArArGrUrGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0656]

[0657] **예 18 - mRNA로서 전달된 MG3-6에 대한 유도 만능 줄기 세포(iPSC)에서 TRAC에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0658] ATCC-BXS0116 인간 [비-히스패닉계 백인 여성] 유도 만능 줄기(IPS) 세포를 핵감염 전, 10 μM ROCK 억제제 Y-27632를 함유하는 mTESR Plus(STEMCELL Technologies) 중 Corning Matrigel-코팅 플라스틱웨어 상에서 24시간 동안 배양하였다. MG3-6 RNP(106 pmol 단백질/120 pmol 가이드) 또는 mRNA(250 또는 500 ng mRNA/12 pmol 가이드)의 핵감염을 Lonza 4D 전기천공기를 사용하여 iPSC(200,000) 내로 수행하였다. 형질감염 후 5일차에 게놈 DNA 추출을 위해 Accutase로 세포를 수확하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 사용해 TRAC 6 gRNA(서열번호 6804)에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 11**).

[0659] 표 9:

예 18 에 사용된 가이드 서열

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6804	MG3-6-TRAC-sgRNA-6	mC*mG*mA*rArUrCrCrUrCrCrUrCrCrUrGrArArArGrUrGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0660]

[0661] **예 19 - CD2에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0662] 제조사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, T 세포(200,000) 내로의 MG3-6 RNP(106 pmol 단백질/160 pmol 가이드)의 핵감염을 수행하였다. 형질감염 후 5일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 12**).

[0663] 표 10A:

예 19 에 사용된 가이드 서열

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6811	MG3-6-CD2-sgRNA-A1	mA*mU*mU*rUrArCrArUrGrGrArArArGrCrUrCrArUrCrUrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6812	MG3-6-CD2-sgRNA-B1	mU*mU*mU*rUrUrArUrArGrGrUrGrCrArGrUrCrUrCrCrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6813	MG3-6-CD2-sgRNA-C1	mU*mG*mC*rCrUrUrGrGrArArArCrCrUrGrGrGrGrUrGrCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6814	MG3-6-CD2-sgRNA-D1	mG*mG*mG*rArArArArArArCrUrUrCrArGrArCrArArGrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6815	MG3-6-CD2-sgRNA-E1	mU*mU*mG*rCrArCrArArUrUrCrArGrArArArArGrArGrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6816	MG3-6-CD2-sgRNA-F1	mG*mA*mA*rCrUrCrUrGrArArArArUrUrArArGrCrArUrCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6817	MG3-6-CD2-sgRNA-G1	mU*mG*mU*rUrGrGrArArArArArArUrArUrUrUrGrArUrUrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6818	MG3-6-CD2-sgRNA-H1	mU*mG*mA*rUrGrUrCrCrUrGrArCrCrCrArArGrGrCrArCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6819	MG3-6-CD2-sgRNA-A2	mC*mC*mA*rArGrGrCrArUrUrCrGrUrArArUrCrUrCrUrUrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6820	MG3-6-CD2-sgRNA-B2	mU*mU*mU*rUrArGrArGrArGrGrGrUrCrUrCrArArArArCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6821	MG3-6-CD2-sgRNA-C2	mG*mG*mG*rUrCrUrCrArArArArCrCrArArArGrArUrCrUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0664]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6822	MG3-6-CD2-sgRNA-D2	mG*mG*mA*rArArCrArUrCrUrArArArArCrUrUrUrCrUrCrArGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6823	MG3-6-CD2-sgRNA-E2	mC*mU*mC*rArGrArGrGrGrUrCrArUrCrArCrArCrArCrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6824	MG3-6-CD2-sgRNA-F2	mC*mC*mG*rCrCrArCrGrCrArCrCrUrGrGrArCrArGrCrUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6825	MG3-6-CD2-sgRNA-G2	mU*mG*mG*rArCrArGrCrUrGrArCrArGrGrCrUrCrGrArCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6826	MG3-6-CD2-sgRNA-H2	mG*mC*mU*rGrUrGrCrArCrUrUrGrArArUrUrUrUrGrCrArCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6827	MG3-6-CD2-sgRNA-A3	mU*mU*mU*rArGrArUrGrUrUrUrCrCrCrArUrCrUrUrGrArUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6828	MG3-6-CD2-sgRNA-B3	mC*mC*mA*rUrCrUrUrGrArUrArCrArGrGrUrUrUrArArUrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6829	MG3-6-CD2-sgRNA-C3	mG*mG*mU*rCrArGrUrUrCrCrArUrUrCrArUrUrArCrCrUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6830	MG3-6-CD2-sgRNA-D3	mU*mU*mC*rCrArUrUrCrArUrUrArCrCrUrCrArCrArGrGrUrGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6831	MG3-6-CD2-sgRNA-E3	mG*mG*mG*rUrUrGrUrGrUrUrGrArUrArCrArArGrUrCrCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6832	MG3-6-CD2-sgRNA-F3	mA*mA*mG*rUrCrCrArGrGrArGrArArUrCrUrUrUrGrGrUrUrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6833	MG3-6-CD2-sgRNA-G3	mG*mG*mC*rArGrCrArUrCrCrUrUrGrGrCrCrArGrArGrUrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr

[0665]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6834	MG3-6-CD2-sgRNA-H3	mG*mC*mC*rArGrArGrUrArArUrGrGrGrCrUrCrUrCrUrGrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6835	MG3-6-CD2-sgRNA-A4	mC*mA*mC*rUrUrCrUrCrUrUrCrCrUrUrUrUrGrCrArGrArGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6836	MG3-6-CD2-sgRNA-B4	mU*mA*mU*rArGrArArArArCrGrArGrCrArGrUrGrCrCrArCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6837	MG3-6-CD2-sgRNA-C4	mA*mG*mC*rArGrUrGrCrCrArCrArArArGrArCrCrArUrCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6838	MG3-6-CD2-sgRNA-D4	mA*mU*mG*rCrCrArArUrGrArUrGrArGrArUrArGrArUrGrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6839	MG3-6-CD2-sgRNA-E4	mG*mA*mA*rGrArGrArArGrUrGrGrGrArUrGrGrCrUrGrGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6840	MG3-6-CD2-sgRNA-F4	mC*mC*mA*rCrArGrArGrUrArGrCrUrArCrUrGrArArGrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6841	MG3-6-CD2-sgRNA-G4	mC*mG*mU*rGrUrUrCrArGrCrArCrCrArGrCrCrUrCrArGrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6842	MG3-6-CD2-sgRNA-H4	mG*mG*mG*rCrArCrArCrArArGrUrUrCrArCrCrArGrCrArGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6843	MG3-6-CD2-sgRNA-A5	mC*mA*mG*rCrArGrArArArGrGrCrCrCrGrCrCrCrUrCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6844	MG3-6-CD2-sgRNA-B5	mU*mG*mA*rGrUrUrUrUrCrUrGrCrUrGrCrCrCrCrArUrGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr

[0666]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6845	MG3-6-CD2-sgRNA-C5	mA*mU*mG*rGrGrGrArGrGrUrUrUrUrGrGrCrUrGrArArCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6846	MG3-6-CD2-sgRNA-D5	mU*mG*mA*rArCrUrCrGrArGrGrUrCrUrGrGrGrGrArGrGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6847	MG3-6-CD2-sgRNA-E5	mA*mA*mC*rUrUrGrUrGrUrGrCrCrCrGrArCrGrGrArGrCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6848	MG3-6-CD2-sgRNA-F5	mC*mG*mA*rCrGrGrArGrCrArGrGrArGrGrCrCrUrCrUrUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6849	MG3-6-CD2-sgRNA-G5	mG*mG*mA*rGrGrArGrGrGrArUrGrUrUrGrGrGrArArGrUrUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6850	MG3-6-CD2-sgRNA-H5	mG*mU*mU*rGrGrGrArArGrUrUrGrCrUrGrGrArUrUrCrUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6851	MG3-6-CD2-sgRNA-A6	mA*mG*mG*rGrGrUrUrGrArArGrCrUrGrGrArArUrUrUrGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6852	MG3-6-CD2-sgRNA-B6	mC*mC*mC*rUrUrUrCrUrUrCrArGrUrArGrCrUrArCrUrCrUrGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
화학적 변형에 대한 참고 사항: m = 2'O-메틸 리보뉴클레오티드(예를 들어, mC = 2' 히드록실 대신 2'-O 메틸을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); f = 2'-플루오로 리보뉴클레오티드(예를 들어, fC = 2' 히드록실 대신 2' 플루오린을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); * = 포스포로티오에이트 결합; r: 당 리보오스를 포함하는 천연 RNA 결합(예를 들어, A 염기의 리보오스 또는 RNA 형태는 rA 로 기록됨), d: 데옥시리보오스 당(DNA) 결합(예를 들어, A 염기의 데옥시리보오스 형태는 dA 로 기록됨)		

[0667]

[0668] 표 10B:

예 19 에서 표적화된 부위

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6853	MG3-6-CD2-표적 부위-A1	ATTTACATGGAAAGCTCATCTT
6854	MG3-6-CD2-표적 부위-B1	TTTTTATAGGTGCAGTCTCCAA
6855	MG3-6-CD2-표적 부위-C1	TGCCTTGGAAACCTGGGGTGCC
6856	MG3-6-CD2-표적 부위-D1	GGGAAAAAACTTCAGACAAGAA
6857	MG3-6-CD2-표적 부위-E1	TTGCACAATTCAGAAAAGAGAA
6858	MG3-6-CD2-표적 부위-F1	GAACTCTGAAAATTAAGCATCT
6859	MG3-6-CD2-표적 부위-G1	TGTTGGAAAAAATATTTGATTT
6860	MG3-6-CD2-표적 부위-H1	TGATGTCCTGACCCAAGGCACC
6861	MG3-6-CD2-표적 부위-A2	CCAAGGCATTCGTAATCTCTTT
6862	MG3-6-CD2-표적 부위-B2	TTTTAGAGAGGGTCTCAAAACC
6863	MG3-6-CD2-표적 부위-C2	GGGTCTCAAAACCAAAGATCTC
6864	MG3-6-CD2-표적 부위-D2	GGAAACATCTAAAACTTTCTCA
6865	MG3-6-CD2-표적 부위-E2	CTCAGAGGGTCATCACACACAA
6866	MG3-6-CD2-표적 부위-F2	CCGCCACGCACCTGGACAGCTG
6867	MG3-6-CD2-표적 부위-G2	TGGACAGCTGACAGGCTCGACA
6868	MG3-6-CD2-표적 부위-H2	GCTGTGCACTTGAATTTTGCAC
6869	MG3-6-CD2-표적 부위-A3	TTTAGATGTTTCCCATCTTGAT
6870	MG3-6-CD2-표적 부위-B3	CCATCTTGATACAGGTTTAATT
6871	MG3-6-CD2-표적 부위-C3	GGTCAGTTCCATTCATTACCTC
6872	MG3-6-CD2-표적 부위-D3	TTCCATTCATTACCTCACAGGT
6873	MG3-6-CD2-표적 부위-E3	GGGTTGTGTTGATACAAGTCCA
6874	MG3-6-CD2-표적 부위-F3	AAGTCCAGGAGATCTTTGGTTT
6875	MG3-6-CD2-표적 부위-G3	GGCAGCATCCTTGGCCAGAGTA
6876	MG3-6-CD2-표적 부위-H3	GCCAGAGTAATGGGCTCTCTGC
6877	MG3-6-CD2-표적 부위-A4	CACTTCTCTTCCTTTTGCAGAG
6878	MG3-6-CD2-표적 부위-B4	TATAGAAAACGAGCAGTGCCAC
6879	MG3-6-CD2-표적 부위-C4	AGCAGTGCCACAAAGACCATCA
6880	MG3-6-CD2-표적 부위-D4	ATGCCAATGATGAGATAGATGT
6881	MG3-6-CD2-표적 부위-E4	GAAGAGAAGTGGGATGGCTGGG
6882	MG3-6-CD2-표적 부위-F4	CCACAGAGTAGCTACTGAAGAA
6883	MG3-6-CD2-표적 부위-G4	CGTGTTCAGCACCAGCCTCAGA
6884	MG3-6-CD2-표적 부위-H4	GGGCACACAAGTTCACCAGCAG
6885	MG3-6-CD2-표적 부위-A5	CAGCAGAAAGGCCCGCCCCTCC
6886	MG3-6-CD2-표적 부위-B5	TGAGTTTTCTGCTGCCCCATGG
6887	MG3-6-CD2-표적 부위-C5	ATGGGGAGGTTTTGGCTGAACT
6888	MG3-6-CD2-표적 부위-D5	TGAACTCGAGGTCTGGGGAGGG
6889	MG3-6-CD2-표적 부위-E5	AACTTGTGTGCCCGACGGAGCA
6890	MG3-6-CD2-표적 부위-F5	CGACGGAGCAGGAGGCCTCTTC
6891	MG3-6-CD2-표적 부위-G5	GGAGGAGGATGTTGGGAAGTTG
6892	MG3-6-CD2-표적 부위-H5	GTTGGGAAGTTGCTGGATTCTG
6893	MG3-6-CD2-표적 부위-A6	AGGGGTTGAAGCTGGAATTTGG

[0669]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6894	MG3-6-CD2-표적 부위-B6	CCCTTTCTTCAGTAGCTACTCT

[0670]

[0671] 예 20 - CD5에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과

[0672] 제조사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, T 세포(200,000) 내로의 MG3-6 RNP(106 pmol 단백질/160 pmol 가이드)의 핵감염을 수행하였다. 형질감염 후 5일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 13**).

[0673] 표 11A:

예 20 에 사용된 가이드 서열

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6895	MG3-6-CD5-sgRNA-A1	mA*mG*mA*rArGrGrCrCrArGrArArArCrCrArUrGrCrCrCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6896	MG3-6-CD5-sgRNA-B1	mG*mU*mA*rCrArArGrGrUrGrGrCrCrArGrCrGrGrUrUrGrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6897	MG3-6-CD5-sgRNA-C1	mU*mU*mC*rUrGrArCrCrCrCrCrArGrArUrUrUrCrCrArGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6898	MG3-6-CD5-sgRNA-D1	mC*mA*mC*rCrCrGrUrUrCrCrArArCrUrCrGrArArGrUrGrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6899	MG3-6-CD5-sgRNA-E1	mA*mC*mU*rCrGrArArGrUrGrCrCrArGrGrGrCrCrArGrCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6900	MG3-6-CD5-sgRNA-F1	mG*mC*mA*rCrArUrGrGrUrUrGrCrArGrCrCrArGrArGrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6901	MG3-6-CD5-sgRNA-G1	mG*mG*mG*rCrCrGrGrArGrCrUrCrCrArArGrCrArGrUrGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6902	MG3-6-CD5-sgRNA-H1	mC*mU*mC*rArArUrCrArUrCrUrGrCrUrArCrGrGrArCrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6903	MG3-6-CD5-sgRNA-A2	mC*mA*mG*rArArArUrGrArCrArUrGrUrGrUrCrArCrUrCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6904	MG3-6-CD5-sgRNA-B2	mG*mG*mC*rUrGrGrCrUrArGrUrUrArCrCrCrArCrCrUrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6905	MG3-6-CD5-sgRNA-C2	mG*mC*mU*rArGrUrUrArCrCrCrArCrCrUrArArGrCrArGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0674]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6906	MG3-6-CD5-sgRNA-D2	mU*mG*mA*rGrGrUrGrUrGrUrArGrGrUrGrArCrArArGrGrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6907	MG3-6-CD5-sgRNA-E2	mG*mU*mG*rUrArGrGrUrGrArCrArArGrGrArArGrGrGrGrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6908	MG3-6-CD5-sgRNA-F2	mG*mC*mA*rCrCrCrCrArCrArGrUrUrCrArGrCrCrGrCrUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6909	MG3-6-CD5-sgRNA-G2	mU*mG*mG*rCrArGrArCrUrUrUrUrGrArCrGrCrUrUrGrArCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6910	MG3-6-CD5-sgRNA-H2	mC*mC*mA*rUrGrUrGrCrCrArUrCrCrGrUrCrCrUrUrGrArGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6911	MG3-6-CD5-sgRNA-A3	mG*mG*mU*rGrArGrCrCrUrUrGrCrCrUrGrGrArArArUrCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6912	MG3-6-CD5-sgRNA-B3	mC*mA*mG*rArArGrArCrArArCrArCrCrUrCrCrArArCrGrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6913	MG3-6-CD5-sgRNA-C3	mC*mA*mA*rCrUrCrCrArGrArGrCrCrCrArCrArGrGrUrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6914	MG3-6-CD5-sgRNA-D3	mG*mG*mG*rCrUrCrUrGrGrArGrUrUrGrUrGrGrUrGrGrGrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6915	MG3-6-CD5-sgRNA-E3	mU*mG*mU*rCrGrUrUrGrGrArGrGrUrGrUrUrGrUrCrUrUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6916	MG3-6-CD5-sgRNA-F3	mC*mU*mC*rUrCrUrCrCrUrCrUrCrCrUrArGrCrUrCrCrUrCrGrU rUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrG rCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrC rGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6917	MG3-6-CD5-sgRNA-G3	mG*mC*mC*rUrGrGrGrGrGrUrArCrCrArUrCrArGrCrUrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr

[0675]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6918	MG3-6-CD5-sgRNA-H3	mC*mC*mA*rUrCrArGrCrUrArUrGrArGrGrCrCrCrArGrGrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6919	MG3-6-CD5-sgRNA-A4	mC*mU*mA*rUrGrArGrGrCrCrCrArGrGrArCrArArGrArCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6920	MG3-6-CD5-sgRNA-B4	mG*mC*mU*rCrCrUrUrCrUrUrGrArArGrCrArUrCrUrGrCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6921	MG3-6-CD5-sgRNA-C4	mA*mG*mA*rGrArCrUrGrArGrGrCrArGrGrCrArGrArGrCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6922	MG3-6-CD5-sgRNA-D4	mA*mC*mC*rArGrCrCrCrUrUrGrCrCrArArUrCrCrArArUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6923	MG3-6-CD5-sgRNA-E4	mU*mG*mC*rCrCrUrCrCrUrUrUrGrCrUrCrArGrGrUrArArGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6924	MG3-6-CD5-sgRNA-F4	mG*mG*mC*rArArGrArArCrUrCrGrGrCrCrArCrUrUrUrUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6925	MG3-6-CD5-sgRNA-G4	mC*mC*mA*rGrGrGrArGrGrUrArCrArGrCrUrUrGrArGrUrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6926	MG3-6-CD5-sgRNA-H4	mA*mG*mC*rUrUrGrArGrUrUrCrUrGrGrArUrCrUrUrCrCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6927	MG3-6-CD5-sgRNA-A5	mC*mU*mG*rGrArUrCrUrUrCrCrArUrUrGrGrArUrUrGrGrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6928	MG3-6-CD5-sgRNA-B5	mG*mG*mC*rUrGrGrUrGrUrUrCrCrCrGrUrGrGrCrUrCrCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr

[0676]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6929	MG3-6-CD5-sgRNA-C5	mG*mU*mU*rCrCrCrGrUrGrGrCrUrCrCrCrCrUrGrGrGrUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6930	MG3-6-CD5-sgRNA-D5	mU*mG*mC*rUrUrCrArArGrArArGrGrArGrCrCrArCrArCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6931	MG3-6-CD5-sgRNA-E5	mA*mG*mG*rUrUrGrUrUrGrCrArGrArGrGrArArGrUrUrCrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6932	MG3-6-CD5-sgRNA-F5	mU*mG*mC*rArGrArGrGrArArGrUrUrCrUrCrCrArGrGrUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6933	MG3-6-CD5-sgRNA-G5	mU*mC*mU*rCrCrArGrGrUrCrCrUrGrGrGrUrCrUrUrGrUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6934	MG3-6-CD5-sgRNA-H5	mG*mC*mC*rUrCrArUrArGrCrUrGrArUrGrGrUrArCrCrCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6935	MG3-6-CD5-sgRNA-A6	mC*mA*mC*rGrCrCrGrGrCrArCrArGrUrGrCrUrGrGrCrCrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6936	MG3-6-CD5-sgRNA-B6	mA*mA*mG*rGrCrArCrCrGrUrGrGrArGrGrUrGrCrGrCrCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6937	MG3-6-CD5-sgRNA-C6	mG*mA*mC*rGrCrUrGrGrUrGrArCrCrCrArArCrArUrCrCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6938	MG3-6-CD5-sgRNA-D6	mG*mG*mA*rCrArGrArArGrArGrCrCrCrCrCrGrGrGrArUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6939	MG3-6-CD5-sgRNA-E6	mU*mC*mC*rUrGrGrCrUrGrArArGrArGrCrUrGrUrCrArCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0677]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6940	MG3-6-CD5-sgRNA-F6	mC*mC*mC*rCrArCrCrArGrArCrGrGrCrUrCrUrGrCrArCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6941	MG3-6-CD5-sgRNA-G6	mC*mC*mC*rArGrGrCrCrArGrGrGrArUrCrCrArArArCrCrCrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6942	MG3-6-CD5-sgRNA-H6	mU*mU*mC*rArCrUrArGrCrUrUrCrUrUrGrUrArGrGrCrArArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6943	MG3-6-CD5-sgRNA-A7	mC*mC*mA*rGrCrArGrCrArCrCrArCrCrCrArGrGrArGrCrArCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6944	MG3-6-CD5-sgRNA-B7	mA*mU*mG*rCrUrUrGrCrCrArCrCrGrUrGrCrCrUrGrCrGrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6945	MG3-6-CD5-sgRNA-C7	mA*mC*mC*rGrUrGrCrCrUrGrCrGrGrCrCrArGrGrCrCrUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6946	MG3-6-CD5-sgRNA-D7	mC*mC*mU*rGrCrGrGrCrCrArGrGrCrCrUrGrCrGrGrGrUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6947	MG3-6-CD5-sgRNA-E7	mU*mC*mC*rGrCrCrArGrArArGrArArGrCrArGrCrGrCrCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6948	MG3-6-CD5-sgRNA-F7	mU*mU*mA*rCrUrGrUrUrUrUrGrGrUrUrCrArUrUrCrCrCrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6949	MG3-6-CD5-sgRNA-G7	mU*mC*mC*rArCrUrGrGrCrGrCrUrGrCrUrUrCrUrUrCrUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6950	MG3-6-CD5-sgRNA-H7	mA*mG*mC*rUrGrArCrArGrGrUrGrGrGrArGrUrUrCrCrUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6951	MG3-6-CD5-sgRNA-A8	mG*mG*mC*rUrGrUrArUrUrCrGrUrUrArUrCrCrArCrGrUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr

[0678]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
		GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6952	MG3-6-CD5-sgRNA-B8	mU*mC*mG*rUrUrArUrCrCrArCrGrUrGrGrGrArGrGrCrUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6953	MG3-6-CD5-sgRNA-C8	mG*mG*mA*rGrGrCrUrGrUrGrGrGrGrUrUrCrUrCrArGrCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6954	MG3-6-CD5-sgRNA-D8	mC*mC*mU*rUrUrCrUrUrUrCrCrCrArGrCrUrCrUrGrGrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6955	MG3-6-CD5-sgRNA-E8	mC*mC*mG*rArCrArGrUrGrArCrUrArUrGrArUrCrUrGrCrArGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6956	MG3-6-CD5-sgRNA-F8	mG*mA*mC*rUrArUrGrArUrCrUrGrCrArUrGrGrGrGrCrUrCrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6957	MG3-6-CD5-sgRNA-G8	mC*mU*mU*rUrArCrArGrCrCrUrCrUrGrArGrCrCrCrCrArUrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
6958	MG3-6-CD5-sgRNA-H8	mA*mU*mA*rGrUrCrArCrCrUrGrUrCrGrGrArGrGrArGrUrUrGrGr UrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGr GrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCr CrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrCrGrGrGrCrGr GrUrArUrGrU*mU*mU*mU
화학적 변형에 대한 참고 사항: m = 2'O-메틸 리보뉴클레오티드(예를 들어, mC = 2' 히드록실 대신 2'-O 메틸을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); f = 2'-플루오로 리보뉴클레오티드(예를 들어, fC = 2' 히드록실 대신 2' 플루오린을 갖는 시토신 리보뉴클레오티드); * = 포스포로티오에이트 결합; r: 당 리보오스를 포함하는 천연 RNA 결합(예를 들어, A 염기의 리보오스 또는 RNA 형태는 rA 로 기록됨), d: 데옥시리보오스 당(DNA) 결합(예를 들어, A 염기의 데옥시리보오스 형태는 dA 로 기록됨)		

[0679]

[0680] 표 11B:

예 20 에서 표적화된 부위

서열 번호	엔티티 명칭	서열
6959	MG3-6-CD5-표적 부위-A1	AGAAGGCCAGAAACCATGCCCA
6960	MG3-6-CD5-표적 부위-B1	GTACAAGGTGGCCAGCGGTTGC
6961	MG3-6-CD5-표적 부위-C1	TTCTGACCCCCAGATTTCCAGG
6962	MG3-6-CD5-표적 부위-D1	CACCCGTTCCAACTCGAAGTGC
6963	MG3-6-CD5-표적 부위-E1	ACTCGAAGTGCCAGGGCCAGCT
6964	MG3-6-CD5-표적 부위-F1	GCACATGGTTTGCAGCCAGAGC
6965	MG3-6-CD5-표적 부위-G1	GGGCCGGAGCTCCAAGCAGTGG
6966	MG3-6-CD5-표적 부위-H1	CTCAATCATCTGCTACGGACAA
6967	MG3-6-CD5-표적 부위-A2	CAGAAATGACATGTGTCACTCT
6968	MG3-6-CD5-표적 부위-B2	GGCTGGCTAGTTACCCACCTAA
6969	MG3-6-CD5-표적 부위-C2	GCTAGTTACCCACCTAAGCAGG
6970	MG3-6-CD5-표적 부위-D2	TGAGGTGTGTAGGTGACAAGGA
6971	MG3-6-CD5-표적 부위-E2	GTGTAGGTGACAAGGAAGGGGC
6972	MG3-6-CD5-표적 부위-F2	GCACCCCACAGTTCAGCCGCTG
6973	MG3-6-CD5-표적 부위-G2	TGGCAGACTTTTGACGCTTGAC
6974	MG3-6-CD5-표적 부위-H2	CCATGTGCCATCCGTCCTTGAG
6975	MG3-6-CD5-표적 부위-A3	GGTGAGCCTTGCCTGGAAATCT
6976	MG3-6-CD5-표적 부위-B3	CAGAAGACAACACCTCCAACGA
6977	MG3-6-CD5-표적 부위-C3	CAACTCCAGAGCCCACAGGTAA
6978	MG3-6-CD5-표적 부위-D3	GGGCTCTGGAGTTGTGGTGGGC
6979	MG3-6-CD5-표적 부위-E3	TGTCGTTGGAGGTGTTGTCTTC
6980	MG3-6-CD5-표적 부위-F3	CTCTCTCCTCTCCTAGCTCCTC
6981	MG3-6-CD5-표적 부위-G3	GCCTGGGGGGTACCATCAGCTA
6982	MG3-6-CD5-표적 부위-H3	CCATCAGCTATGAGGCCCAGGA
6983	MG3-6-CD5-표적 부위-A4	CTATGAGGCCCAGGACAAGACC
6984	MG3-6-CD5-표적 부위-B4	GCTCCTTCTTGAAGCATCTGCC
6985	MG3-6-CD5-표적 부위-C4	AGAGACTGAGGCAGGCAGAGCC
6986	MG3-6-CD5-표적 부위-D4	ACCAGCCCTTGCCAATCCAATG
6987	MG3-6-CD5-표적 부위-E4	TGCCCTCCTTTGCTCAGGTAAG
6988	MG3-6-CD5-표적 부위-F4	GGCAAGAACTCGGCCACTTTTC
6989	MG3-6-CD5-표적 부위-G4	CCAGGGAGGTACAGCTTGAGTT
6990	MG3-6-CD5-표적 부위-H4	AGCTTGAGTTCTGGATCTTCCA
6991	MG3-6-CD5-표적 부위-A5	CTGGATCTTCCATTGGATTGGC
6992	MG3-6-CD5-표적 부위-B5	GGCTGGTGTTCCCGTGGCTCCC
6993	MG3-6-CD5-표적 부위-C5	GTTCCCGTGGCTCCCCTGGGTC
6994	MG3-6-CD5-표적 부위-D5	TGCTTCAAGAAGGAGCCACACT
6995	MG3-6-CD5-표적 부위-E5	AGGTTGTTGCAGAGGAAGTTCT
6996	MG3-6-CD5-표적 부위-F5	TGCAGAGGAAGTTCTCCAGGTC
6997	MG3-6-CD5-표적 부위-G5	TCTCCAGGTCCTGGGTCTTGTC
6998	MG3-6-CD5-표적 부위-H5	GCCTCATAGCTGATGGTACCCC
6999	MG3-6-CD5-표적 부위-A6	CACGCCGGCACAGTGCTGGCCG

[0681]

서열 번호	엔티티 명칭	서열
7000	MG3-6-CD5-표적 부위-B6	AAGGCACCGTGGAGGTGCGCCA
7001	MG3-6-CD5-표적 부위-C6	GACGCTGGTGACCCAACATCCC
7002	MG3-6-CD5-표적 부위-D6	GGACAGAAGAGCCCCCGGGATG
7003	MG3-6-CD5-표적 부위-E6	TCCTGGCTGAAGAGCTGTCACA
7004	MG3-6-CD5-표적 부위-F6	CCCCACCAGACGGCTCTGCACC
7005	MG3-6-CD5-표적 부위-G6	CCCAGGCCAGGATCCAAACCCC
7006	MG3-6-CD5-표적 부위-H6	TTCACTAGCTTCTTGTAGGCAA
7007	MG3-6-CD5-표적 부위-A7	CCAGCAGCACCACCAGGAGCAC
7008	MG3-6-CD5-표적 부위-B7	ATGCTTGCCACCGTGCCTGCGG
7009	MG3-6-CD5-표적 부위-C7	ACCGTGCCTGCGGCCAGGCCTG
7010	MG3-6-CD5-표적 부위-D7	CCTGCGGCCAGGCCTGCGGGGT
7011	MG3-6-CD5-표적 부위-E7	TCCGCCAGAAGAAGCAGCGCCA
7012	MG3-6-CD5-표적 부위-F7	TTACTGTTTTGGTTCATTCCCG
7013	MG3-6-CD5-표적 부위-G7	TCCACTGGCGCTGCTTCTTCTG
7014	MG3-6-CD5-표적 부위-H7	AGCTGACAGGTGGGAGTTCCTG
7015	MG3-6-CD5-표적 부위-A8	GGCTGTATTCGTTATCCACGTG
7016	MG3-6-CD5-표적 부위-B8	TCGTTATCCACGTGGGAGGCTG
7017	MG3-6-CD5-표적 부위-C8	GGAGGCTGTGGGGTTCTCAGCA
7018	MG3-6-CD5-표적 부위-D8	CCTTTCTTTCCCCAGCTCTGGA
7019	MG3-6-CD5-표적 부위-E8	CCGACAGTGACTATGATCTGCA
7020	MG3-6-CD5-표적 부위-F8	GACTATGATCTGCATGGGGCTC
7021	MG3-6-CD5-표적 부위-G8	CTTTACAGCCTCTGAGCCCCAT
7022	MG3-6-CD5-표적 부위-H8	ATAGTCACTGTCGGAGGAGTTG

[0682]

[0683] **예 21 - MG3-6 및 MG3-8에 의한 표적화된 RNA 절단**

[0684] 5' 인접 서열 UUGGACCA를 갖는 스페이서 (GGUCAGGGCGCGUCAGCGGGUGUUGGCGGGUGUCGGGGCUGGCUUAAAUUUUGGACCAGUCGAGGCUUGCGACGUGGUGGCUUUUCCAGUCGGGAAACCUG)를 함유하는 101 nt RNA를 제조사 지침에 따라 T7 Megascript 키트(NEB)를 사용하여 T7 프로모터-함유 PCR 산물의 전사를 통해 제조하였다. 생성된 RNA를 Monarch RNA 분취 스핀 컬럼(NEB)을 사용하여 정제한 다음, 권장 지침에 따라 FAM-말레이미드 염료를 사용하여 5' EndTag 키트(Vector labs)로 표지하였다. 생성된 RNA는 스페이서 내의 단일 위치에서 절단되는 경우 하나의 5' 표지 및 60 nt의 예상 밴드 크기를 갖는다. RNA 절단을 시험하기 위해, ssRNA 표적을 첨가하기 전에 2 pmol의 단백질 및 sgRNA를 15분 동안 사전 인큐베이션하였다. RNP 복합체를 절단 완충액(10 mM Tris, 100 mM NaCl, 및 10 mM $MgCl_2$) 중 10:1 비율(200 nM RNA: 2 μM RNP)로 표지된 RNA에 첨가하고, 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 반응물을 단백분해효소 K로 퀀칭시키고 15% TBE Urea-PAGE 겔(Bio-rad) 상에서 분해하였다. 겔은 상업적 양성 대조군 SauCas9(NEB)뿐만 아니라 MG3-6 및 MG3-8에 의한 부위 지향 RNA 절단을 보여준다(**도 14**). 결과는 MG3-6 및 MG3-8이 표적화된 RNA 절단을 할 수 있고, SauCas9와 RNA 절단의 관점에서 유사함을 나타냈다.

[0685] **예 22 - FAS에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0686] 제조사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, T 세포(200,000) 내로의 MG3-6 RNP(104 pmol 단백질/120 pmol 가이드)(서열번호 7023-7056)의 핵감염을 수행하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA(서열번호 7057-7090)에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 15**).

[0687] 표 12:

예 22 에 대해 표적화된 가이드 RNA 및 서열

서열 번호	명칭	서열
7023	MG3-6-FAS-sgRNA-A1	mC*mU*mG*rArUrGrArGrUrGrGrUrUrUrCrCrCrUrGrArGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7024	MG3-6-FAS-sgRNA-B1	mU*mU*mA*rGrArUrGrCrUrCrArGrArGrUrGrUrGrUrGrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7025	MG3-6-FAS-sgRNA-C1	mG*mU*mG*rUrGrCrArCrArArGrGrCrUrGrGrCrArCrCrGrCrCrGrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7026	MG3-6-FAS-sgRNA-D1	mG*mA*mG*rArCrArArGrGrCrCrUrArUrCrArArCrArCrCrUrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7027	MG3-6-FAS-sgRNA-E1	mA*mC*mC*rArCrCrArGrUrCrUrUrGrUrArGrGrUrGrUrUrGrGrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7028	MG3-6-FAS-sgRNA-F1	mC*mU*mU*rGrUrCrUrCrUrGrUrUrCrCrArCrCrUrUrUrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7029	MG3-6-FAS-sgRNA-G1	mA*mG*mU*rArGrArCrUrGrUrUrArGrUrGrCrCrArUrGrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7030	MG3-6-FAS-sgRNA-H1	mU*mU*mA*rCrArGrGrUrUrCrUrUrArCrGrUrCrUrGrUrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7031	MG3-6-FAS-sgRNA-A2	mC*mA*mA*rGrUrGrArCrUrGrArCrArUrCrArArCrUrCrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7032	MG3-6-FAS-sgRNA-B2	mA*mC*mU*rCrCrArArGrGrGrArUrUrGrGrArArUrUrGrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7033	MG3-6-FAS-sgRNA-C2	mU*mG*mA*rGrGrArArGrArCrUrGrUrUrArCrUrArCrArGrUrGrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0688]

서열 번호	명칭	서열
7034	MG3-6-FAS-sgRNA-D2	mU*mA*mC*rArGrUrUrGrArGrArCrUrCrArGrArArCrUrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7035	MG3-6-FAS-sgRNA-E2	mU*mU*mU*rGrUrGrUrArArCrArUrArCrCrUrGrGrArGrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7036	MG3-6-FAS-sgRNA-F2	mU*mG*mG*rCrArGrArArUrUrGrGrCrCrArUrCrArUrGrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7037	MG3-6-FAS-sgRNA-G2	mU*mU*mG*rGrGrCrArGrGrUrGrArArArGrGrArArArGrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7038	MG3-6-FAS-sgRNA-H2	mC*mU*mG*rCrArCrArGrUrCrArArUrGrGrGrGrArUrGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7039	MG3-6-FAS-sgRNA-A3	mU*mU*mU*rUrCrUrUrCrCrArArArUrGrCrArGrArArGrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7040	MG3-6-FAS-sgRNA-B3	mA*mU*mC*rUrUrCrUrGrCrArUrUrUrGrGrArArGrArArArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7041	MG3-6-FAS-sgRNA-C3	mU*mA*mG*rArArGrUrGrGrArArArUrArArArCrUrGrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7042	MG3-6-FAS-sgRNA-D3	mA*mA*mG*rArCrUrArArArArCrUrUrArCrUrUrGrGrUrGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7043	MG3-6-FAS-sgRNA-E3	mG*mU*mU*rUrArCrArUrCrUrGrCrArCrUrUrGrGrUrArUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7044	MG3-6-FAS-sgRNA-F3	mA*mA*mG*rArArGrArCrArArArGrCrCrArCrCrCrCrArArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7045	MG3-6-FAS-sgRNA-G3	mA*mC*mA*rArArGrCrCrArCrCrCrCrArArGrUrUrArGrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA

[0689]

서열 번호	명칭	서열
		rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7046	MG3-6-FAS-sgRNA-H3	mC*mC*mC*rCrArArGrUrUrArGrArUrCrUrGrGrArUrCrCr UrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7047	MG3-6-FAS-sgRNA-A4	mC*mA*mG*rArArArGrCrArCrArGrArArArGrGrArArArArCr CrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7048	MG3-6-FAS-sgRNA-B4	mA*mA*mU*rArCrCrUrArCrArGrGrArUrUrUrArArArGrUr UrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7049	MG3-6-FAS-sgRNA-C4	mC*mA*mG*rUrGrGrCrArArUrArArArUrUrUrArUrCrUrGr GrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7050	MG3-6-FAS-sgRNA-D4	mA*mG*mU*rCrArUrGrArCrArCrUrArArGrUrCrArArGrUr UrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7051	MG3-6-FAS-sgRNA-E4	mG*mU*mG*rUrCrArArUrGrArArGrCrCrArArArArUrArGr ArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7052	MG3-6-FAS-sgRNA-F4	mA*mG*mA*rArGrCrGrUrArUrGrArCrArCrArUrUrGrArUr UrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7053	MG3-6-FAS-sgRNA-G4	mU*mU*mU*rGrUrArCrUrCrUrUrGrCrArGrArGrArArArAr UrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7054	MG3-6-FAS-sgRNA-H4	mG*mU*mU*rUrUrUrCrArCrUrCrUrArGrArCrCrArArGrCr UrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7055	MG3-6-FAS-sgRNA-A5	mU*mG*mA*rArUrUrUrUrCrUrCrUrGrCrArArGrArGrUrAr CrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7056	MG3-6-FAS-sgRNA-B5	mA*mG*mA*rGrUrArCrArArArGrArUrUrGrGrCrUrUrUrUr UrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr

[0690]

서열 번호	명칭	서열
		UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7057	MG3-6-FAS-표적 부위-A1	CTGATGAGTGGTTTCCCTGAGC
7058	MG3-6-FAS-표적 부위-B1	TTAGATGCTCAGAGTGTGTGCA
7059	MG3-6-FAS-표적 부위-C1	GTGTGCACAAGGCTGGCACGCC
7060	MG3-6-FAS-표적 부위-D1	GAGACAAGCCTATCAACACCTA
7061	MG3-6-FAS-표적 부위-E1	ACCACCAGTCTTGTAGGTGTTG
7062	MG3-6-FAS-표적 부위-F1	CTTGTCTCTGTTCCACCTTTCA
7063	MG3-6-FAS-표적 부위-G1	AGTAGACTGTTAGTGCCATGAG
7064	MG3-6-FAS-표적 부위-H1	TTACAGGTTCTTACGTCTGTTG
7065	MG3-6-FAS-표적 부위-A2	CAAGTGACTGACATCAACTCCA
7066	MG3-6-FAS-표적 부위-B2	ACTCCAAGGGATTGGAATTGAG
7067	MG3-6-FAS-표적 부위-C2	TGAGGAAGACTGTTACTACAGT
7068	MG3-6-FAS-표적 부위-D2	TACAGTTGAGACTCAGAACTTG
7069	MG3-6-FAS-표적 부위-E2	TTTGTGTAACATACCTGGAGGA
7070	MG3-6-FAS-표적 부위-F2	TGGCAGAATTGGCCATCATGAT
7071	MG3-6-FAS-표적 부위-G2	TTGGGCAGGTGAAAGGAAAGCT
7072	MG3-6-FAS-표적 부위-H2	CTGCACAGTCAATGGGGATGAA
7073	MG3-6-FAS-표적 부위-A3	TTTTCTTCCAAATGCAGAAGAT
7074	MG3-6-FAS-표적 부위-B3	ATCTTCTGCATTTGGAAGAAAA
7075	MG3-6-FAS-표적 부위-C3	TAGAAGTGGAAATAAACTGCAC
7076	MG3-6-FAS-표적 부위-D3	AAGACTAAAACTTACTTGGTGC
7077	MG3-6-FAS-표적 부위-E3	GTTTACATCTGCACTTGGTATT
7078	MG3-6-FAS-표적 부위-F3	AAGAAGACAAAGCCACCCCAAG
7079	MG3-6-FAS-표적 부위-G3	ACAAAGCCACCCCAAGTTAGAT
7080	MG3-6-FAS-표적 부위-H3	CCCCAAGTTAGATCTGGATCCT

[0691]

서열 번호	명칭	서열
7081	MG3-6-FAS-표적 부위-A4	CAGAAAGCACAGAAAGGAAAAC
7082	MG3-6-FAS-표적 부위-B4	AATACCTACAGGATTTAAAGTT
7083	MG3-6-FAS-표적 부위-C4	CAGTGGCAATAAATTTATCTGG
7084	MG3-6-FAS-표적 부위-D4	AGTCATGACACTAAGTCAAGTT
7085	MG3-6-FAS-표적 부위-E4	GTGTCAATGAAGCCAAAATAGA
7086	MG3-6-FAS-표적 부위-F4	AGAAGCGTATGACACATTGATT
7087	MG3-6-FAS-표적 부위-G4	TTTGTACTCTTGCAGAGAAAAT
7088	MG3-6-FAS-표적 부위-H4	GTTTTTCACTCTAGACCAAGCT
7089	MG3-6-FAS-표적 부위-A5	TGAATTTTCTCTGCAAGAGTAC
7090	MG3-6-FAS-표적 부위-B5	AGAGTACAAAGATTGGCTTTTT
r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합		

[0692]

[0693] **예 23 - PD-1에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0694] 제조사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. Lonza

4D 전기천공기를 사용하여, T 세포(200,000) 내로의 MG3-6 RNP(104 pmol 단백질/120 pmol 가이드)(서열번호 7091-7128)의 핵감염을 수행하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA(서열번호 7129-7166)에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 16**).

[0695] **표 13:**

예 23 에 대해 표적화된 가이드 RNA 및 서열

서열 번호	명칭	서열
7091	MG3-6-PD-1-sgRNA-A1	mG*mG*mU*rGrGrCrCrArArGrGrArArGrCrCrGrGrUrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7092	MG3-6-PD-1-sgRNA-B1	mG*mG*mG*rCrCrArArGrArGrCrArGrUrGrUrCrCrArUrCrCrGrUrUrGrArGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7093	MG3-6-PD-1-sgRNA-C1	mG*mG*mC*rCrCrUrCrGrGrArGrUrGrCrCrCrArGrCrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7094	MG3-6-PD-1-sgRNA-D1	mG*mG*mC*rCrUrCrArGrUrGrGrCrUrGrGrGrCrArCrUrCrCrGrUrUrGrArGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7095	MG3-6-PD-1-sgRNA-E1	mG*mG*mG*rCrArCrCrUrCrArUrCrCrCrCrCrGrCrCrCrGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7096	MG3-6-PD-1-sgRNA-F1	mC*mU*mG*rCrUrCrArGrGrGrArCrArCrArGrGrGrCrArCrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7097	MG3-6-PD-1-sgRNA-G1	mG*mG*mA*rCrArCrArGrGrGrCrArCrGrGrGrGrGrCrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7098	MG3-6-PD-1-sgRNA-H1	mA*mG*mC*rUrGrGrArUrUrUrCrCrArGrUrGrGrCrGrArGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7099	MG3-6-PD-1-sgRNA-A2	mG*mU*mU*rCrUrCrUrGrUrGrGrArCrUrArUrGrGrGrGrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7100	MG3-6-PD-1-sgRNA-B2	mC*mU*mC*rArGrCrCrGrUrGrCrCrUrGrUrGrUrUrCrUrCrUrGrUrGrUrGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7101	MG3-6-PD-1-sgRNA-C2	mA*mC*mA*rGrArGrArArCrArCrArGrGrCrArCrGrGrCrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0696]

서열 번호	명칭	서열
7102	MG3-6-PD-1-sgRNA-D2	mG*mG*mG*rUrCrCrUrGrGrCrCrGrUrCrArUrCrUrGrCrUrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7103	MG3-6-PD-1-sgRNA-E2	mC*mG*mG*rCrCrCrGrGrGrArGrCrArGrArUrGrArCrGrGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7104	MG3-6-PD-1-sgRNA-F2	mG*mG*mG*rArGrCrArGrArUrGrArCrGrGrCrCrArGrGrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7105	MG3-6-PD-1-sgRNA-G2	mU*mG*mG*rGrCrArGrCrCrUrGrGrUrGrCrUrGrCrUrArGrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7106	MG3-6-PD-1-sgRNA-H2	mG*mC*mC*rArGrGrArCrCrCrArGrArCrUrArGrCrArGrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7107	MG3-6-PD-1-sgRNA-A3	mA*mC*mU*rArGrCrArGrCrArCrCrArGrGrCrUrGrCrCrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7108	MG3-6-PD-1-sgRNA-B3	mG*mG*mC*rCrGrCrCrCrArCrGrArCrArCrCrArArCrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7109	MG3-6-PD-1-sgRNA-C3	mA*mA*mC*rUrGrGrCrCrGrGrCrUrGrGrCrCrUrGrGrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7110	MG3-6-PD-1-sgRNA-D3	mA*mC*mA*rGrCrCrCrArCrCrCrCrArGrCrCrCrCrUrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7111	MG3-6-PD-1-sgRNA-E3	mC*mU*mG*rGrCrCrUrGrGrGrUrGrArGrGrGrGrCrUrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7112	MG3-6-PD-1-sgRNA-F3	mC*mC*mU*rGrUrCrArCrCrCrUrGrArGrCrUrCrUrGrCrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7113	MG3-6-PD-1-sgRNA-G3	mG*mG*mC*rUrCrUrCrUrUrUrGrArUrCrUrGrCrGrCrCrUrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA

[0697]

서열 번호	명칭	서열
		rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7114	MG3-6-PD-1-sgRNA-H3	mC*mC*mA*rUrCrUrCrCrCrUrGrGrCrCrCrCrCrArArGrGr CrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7115	MG3-6-PD-1-sgRNA-A4	mA*mU*mG*rArCrArGrCrGrGrCrArCrCrUrArCrCrUrCrUr GrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7116	MG3-6-PD-1-sgRNA-B4	mG*mG*mU*rArGrGrUrGrCrCrGrCrUrGrUrCrArUrUrGrC rGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrAr ArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArC rUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrAr GrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7117	MG3-6-PD-1-sgRNA-C4	mG*mU*mG*rArCrUrUrCrCrArCrArUrGrArGrCrGrUrGrGr UrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7118	MG3-6-PD-1-sgRNA-D4	mG*mA*mC*rArCrGrGrArArGrCrGrGrCrArGrUrCrCrUrG rGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrAr ArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArC rUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrAr GrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7119	MG3-6-PD-1-sgRNA-E4	mC*mG*mA*rGrGrArCrCrGrCrArGrCrCrArGrCrCrCrGrG rCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrAr ArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArC rUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrAr GrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7120	MG3-6-PD-1-sgRNA-F4	mG*mG*mA*rCrArArGrCrUrGrGrCrCrGrCrCrUrUrCrCrCr CrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7121	MG3-6-PD-1-sgRNA-G4	mG*mC*mC*rArGrCrUrUrGrUrCrCrGrUrCrUrGrGrUrUrGr CrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7122	MG3-6-PD-1-sgRNA-H4	mU*mG*mU*rCrCrCrCrUrUrCrGrGrUrCrArCrCrArCrGrAr GrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArA rUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCr UrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArG rGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7123	MG3-6-PD-1-sgRNA-A5	mA*mG*mC*rArGrGrGrCrUrGrGrGrGrArGrArArGrGrUrG rGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrAr ArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArC rUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrAr GrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7124	MG3-6-PD-1-sgRNA-B5	mU*mG*mG*rGrGrArGrArArGrGrUrGrGrGrGrGrGrUrU rCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrAr ArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArC

[0698]

서열 번호	명칭	서열
		rUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7125	MG3-6-PD-1-sgRNA-C5	mC*mU*mC*rCrArUrCrUrCrUrCrArGrArCrUrCrCrCrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7126	MG3-6-PD-1-sgRNA-D5	mG*mC*mC*rArGrGrArUrGrGrUrUrCrUrUrArGrGrUrArGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7127	MG3-6-PD-1-sgRNA-E5	mA*mG*mU*rCrGrUrCrUrGrGrGrCrGrGrUrGrCrUrArCrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7128	MG3-6-PD-1-sgRNA-F5	mA*mG*mA*rCrGrArCrUrGrGrCrCrArGrGrGrCrGrCrCrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7129	MG3-6-PD-1-표적 부위-A1	GGTGGCCAAGGAAGCCGGTCAG
7130	MG3-6-PD-1-표적 부위-B1	GGGCCAAGAGCAGTGTCCATCC
7131	MG3-6-PD-1-표적 부위-C1	GGCCCTCGGAGTGCCCAGCCAC
7132	MG3-6-PD-1-표적 부위-D1	GGCCTCAGTGGCTGGGCACTCC
7133	MG3-6-PD-1-표적 부위-E1	GGGCACCTCATCCCCCGCCCGC
7134	MG3-6-PD-1-표적 부위-F1	GGACACAGGGCACGGGGGGCTC
7135	MG3-6-PD-1-표적 부위-G1	GGACACAGGGCACGGGGGGCTC
7136	MG3-6-PD-1-표적 부위-H1	AGCTGGATTTCCAGTGGCGAGA
7137	MG3-6-PD-1-표적 부위-A2	GTTCTCTGTGGACTATGGGGAG
7138	MG3-6-PD-1-표적 부위-B2	CTCAGCCGTGCCTGTGTTCTCT
7139	MG3-6-PD-1-표적 부위-C2	ACAGAGAACACAGGCACGGCTG
7140	MG3-6-PD-1-표적 부위-D2	GGGTCCTGGCCGTCATCTGCTC
7141	MG3-6-PD-1-표적 부위-E2	CGGCCCGGGAGCAGATGACGGC
7142	MG3-6-PD-1-표적 부위-F2	GGGAGCAGATGACGGCCAGGAC
7143	MG3-6-PD-1-표적 부위-G2	TGGGCAGCCTGGTGCTGCTAGT

[0699]

서열 번호	명칭	서열
7144	MG3-6-PD-1-표적 부위-H2	GCCAGGACCCAGACTAGCAGCA
7145	MG3-6-PD-1-표적 부위-A3	ACTAGCAGCACCAGGCTGCCCA
7146	MG3-6-PD-1-표적 부위-B3	GGCCGCCCACGACACCAACCAC
7147	MG3-6-PD-1-표적 부위-C3	AACTGGCCGGCTGGCCTGGGTG
7148	MG3-6-PD-1-표적 부위-D3	ACAGCCCACCCCAGCCCCTCAC
7149	MG3-6-PD-1-표적 부위-E3	CTGGCCTGGGTGAGGGGCTGGG
7150	MG3-6-PD-1-표적 부위-F3	CCTGTCACCCTGAGCTCTGCCC
7151	MG3-6-PD-1-표적 부위-G3	GGCTCTCTTTGATCTGCGCCTT
7152	MG3-6-PD-1-표적 부위-H3	CCATCTCCCTGGCCCCCAAGGC
7153	MG3-6-PD-1-표적 부위-A4	ATGACAGCGGCACCTACCTCTG
7154	MG3-6-PD-1-표적 부위-B4	GGTAGGTGCCGCTGTCATTGCG
7155	MG3-6-PD-1-표적 부위-C4	GTGACTTCCACATGAGCGTGGT
7156	MG3-6-PD-1-표적 부위-D4	GACACGGAAGCGGCAGTCCTGG
7157	MG3-6-PD-1-표적 부위-E4	CGAGGACCGCAGCCAGCCCGGC
7158	MG3-6-PD-1-표적 부위-F4	GGACAAGCTGGCCGCCTTCCCC
7159	MG3-6-PD-1-표적 부위-G4	GCCAGCTTGTCCGTCTGGTTGC
7160	MG3-6-PD-1-표적 부위-H4	TGTCCCCTTCGGTCACCACGAG
7161	MG3-6-PD-1-표적 부위-A5	AGCAGGGCTGGGGAGAAGGTGG
7162	MG3-6-PD-1-표적 부위-B5	TGGGGAGAAGGTGGGGGGGTTC
7163	MG3-6-PD-1-표적 부위-C5	CTCCATCTCTCAGACTCCCCAG
7164	MG3-6-PD-1-표적 부위-D5	GCCAGGATGGTTCTTAGGTAGG
7165	MG3-6-PD-1-표적 부위-E5	AGTCGTCTGGGCGGTGCTACAA
7166	MG3-6-PD-1-표적 부위-F5	AGACGACTGGCCAGGGCGCCTG
r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합		

[0700]

[0701] **예 24 - hRosa26에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0702] 제조사의 권장 지침에 따라 음성 선택 키트(Miltenyi)를 사용하여 PMBC로부터 일차 T 세포를 정제하였다. Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, T 세포(200,000) 내로의 MG3-6 RNP(104 pmol 단백질/120 pmol 가이드)(서열번호 7167-7198)의 핵감염을 수행하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA(서열번호 7199-7230)에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 17**).

[0703] 표 14:

예 24 에 대해 표적화된 가이드 RNA 및 서열

서열 번호	명칭	서열
7167	MG3-6-hRosa26-sgRNA-A1	mA*mU*mC*rUrGrUrCrUrGrGrUrUrUrCrGrCrGrArGrArCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7168	MG3-6-hRosa26-sgRNA-B1	mU*mU*mU*rCrGrCrGrArGrArCrArCrCrArGrGrCrUrArCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7169	MG3-6-hRosa26-sgRNA-C1	mA*mG*mC*rArArGrUrArCrArArCrArArArUrGrGrArArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7170	MG3-6-hRosa26-sgRNA-D1	mG*mC*mA*rArArArGrCrUrArArArArUrUrUrUrUrCrUrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7171	MG3-6-hRosa26-sgRNA-E1	mU*mG*mC*rUrArCrArCrUrUrUrGrGrUrGrGrUrGrCrArGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7172	MG3-6-hRosa26-sgRNA-F1	mA*mC*mU*rCrCrCrCrUrGrCrArGrGrGrCrArArCrGrCrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7173	MG3-6-hRosa26-sgRNA-G1	mC*mG*mA*rCrUrCrGrArCrArUrGrGrArGrGrCrGrArUrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7174	MG3-6-hRosa26-sgRNA-H1	mA*mU*mC*rArCrGrCrGrArGrGrArGrGrArArArGrGrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7175	MG3-6-hRosa26-sgRNA-A2	mA*mG*mG*rArArArGrGrArGrGrGrArGrGrGrCrUrUrCrUrUrGrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7176	MG3-6-hRosa26-sgRNA-B2	mA*mC*mC*rUrCrCrUrCrCrArCrCrGrCrArGrCrUrCrCrCrUrGrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7177	MG3-6-hRosa26-sgRNA-C2	mG*mC*mG*rCrCrUrCrCrCrArCrCrCrArCrArArArCrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0704]

[0705]

서열 번호	명칭	서열
7178	MG3-6-hRosa26-sgRNA-D2	mC*mC*mC*rArCrCrCrCrCrArCrGrArGrUrGrCrCrUrGrUrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7179	MG3-6-hRosa26-sgRNA-E2	mC*mU*mC*rGrUrGrGrGrGrGrUrGrGrGrGrGrArGrGrArGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7180	MG3-6-hRosa26-sgRNA-F2	mG*mC*mU*rGrCrGrGrUrGrGrArGrGrArGrGrUrGrGrArGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7181	MG3-6-hRosa26-sgRNA-G2	mU*mC*mU*rCrUrGrCrUrGrCrCrUrCrCrCrGrUrCrUrUrGrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7182	MG3-6-hRosa26-sgRNA-H2	mC*mU*mC*rCrCrGrUrCrUrUrGrUrArArGrGrArCrCrGrCrCrGrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7183	MG3-6-hRosa26-sgRNA-A3	mC*mG*mA*rGrUrCrGrCrUrUrCrUrCrGrArUrUrArUrGrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7184	MG3-6-hRosa26-sgRNA-B3	mA*mU*mU*rArUrGrGrGrCrGrGrGrArUrUrCrUrUrUrUrGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7185	MG3-6-hRosa26-sgRNA-C3	mG*mG*mG*rArUrUrCrUrUrUrUrGrCrCrUrArGrGrCrUrUrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7186	MG3-6-hRosa26-sgRNA-D3	mC*mC*mU*rGrCrArGrGrGrGrArGrUrGrArGrCrArGrCrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7187	MG3-6-hRosa26-sgRNA-E3	mA*mC*mU*rCrCrGrArUrUrArGrUrUrUrArUrCrUrUrCrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7188	MG3-6-hRosa26-sgRNA-F3	mU*mC*mC*rCrArCrGrGrArCrUrArGrArGrUrUrGrGrUrGrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7189	MG3-6-hRosa26-sgRNA-G3	mA*mA*mA*rUrGrGrArGrCrUrUrArGrUrCrArUrUrCrArCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUr

서열 번호	명칭	서열
		ArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGr ArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArAr UrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7190	MG3-6-hRosa26-sgRNA-H3	mA*mC*mC*rUrGrGrGrGrCrUrGrArUrUrUrUrArUrGrCr ArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUr ArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGr ArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArAr UrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7191	MG3-6-hRosa26-sgRNA-A4	mG*mC*mU*rGrArUrUrUrUrArUrGrCrArArCrGrArGrAr CrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUr ArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGr ArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArAr UrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7192	MG3-6-hRosa26-sgRNA-B4	mA*mU*mC*rArCrCrUrGrArGrUrUrUrUrArUrArCrCrArU rUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrA rArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrA rCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArU rArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7193	MG3-6-hRosa26-sgRNA-C4	mG*mC*mU*rGrCrArCrCrArCrCrArArArGrUrGrUrArGr CrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUr ArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGr ArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArAr UrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7194	MG3-6-hRosa26-sgRNA-D4	mU*mU*mC*rCrCrUrCrCrCrUrCrArCrCrCrUrCrUrCrUrC rCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrA rArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrA rCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArU rArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7195	MG3-6-hRosa26-sgRNA-E4	mG*mC*mC*rUrGrGrUrGrUrCrUrCrGrCrGrArArArCrCr ArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUr ArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGr ArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArAr UrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7196	MG3-6-hRosa26-sgRNA-F4	mA*mC*mA*rGrArUrUrGrGrUrUrCrCrArCrCrArCrArAr ArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUr ArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGr ArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArAr UrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7197	MG3-6-hRosa26-sgRNA-G4	mC*mA*mC*rCrArCrArArArUrUrArArGrGrCrUrUrGrAr GrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUr ArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGr ArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArAr UrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7198	MG3-6-hRosa26-sgRNA-H4	mC*mA*mU*rUrUrUrArUrCrCrUrUrUrUrCrCrUrUrArG rCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrA rArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrA rCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArU rArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
7199	MG3-6-hRosa26-표적 부위-A1	ATCTGTCTGGTTTCGCGAGACA
7200	MG3-6-hRosa26-표적 부위-B1	TTTCGCGAGACACCAGGCTACC
7201	MG3-6-hRosa26-표적 부위-C1	AGCAAGTACAACAAATGGAAAA
7202	MG3-6-hRosa26-표적 부위-D1	GCAAAAGCTAAAATTTTTCTAT

[0706]

서열 번호	명칭	서열
7203	MG3-6-hRosa26-표적 부위-E1	TGCTACACTTTGGTGGTGCAGC
7204	MG3-6-hRosa26-표적 부위-F1	ACTCCCCTGCAGGGCAACGCCC
7205	MG3-6-hRosa26-표적 부위-G1	CGACTCGACATGGAGGCGATGA
7206	MG3-6-hRosa26-표적 부위-H1	ATCACGCGAGGAGGAAAGGAGG
7207	MG3-6-hRosa26-표적 부위-A2	AGGAAAGGAGGGAGGGCTTCTT
7208	MG3-6-hRosa26-표적 부위-B2	ACCTCCTCCACCGCAGCTCCCT
7209	MG3-6-hRosa26-표적 부위-C2	GCGCCTCCCACCCACAAACCAG
7210	MG3-6-hRosa26-표적 부위-D2	CCCACCCCCACGAGTGCCTGTA
7211	MG3-6-hRosa26-표적 부위-E2	CTCGTGGGGGTGGGGGAGGAGC
7212	MG3-6-hRosa26-표적 부위-F2	GCTGCGGTGGAGGAGGTGGAGA
7213	MG3-6-hRosa26-표적 부위-G2	TCTCTGCTGCCTCCCGTCTTGT
7214	MG3-6-hRosa26-표적 부위-H2	CTCCCGTCTTGTAAGGACCGCC
7215	MG3-6-hRosa26-표적 부위-A3	CGAGTCGCTTCTCGATTATGGG
7216	MG3-6-hRosa26-표적 부위-B3	ATTATGGGCGGGATTCTTTTGC
7217	MG3-6-hRosa26-표적 부위-C3	GGGATTCTTTTGCCTAGGCTTA
7218	MG3-6-hRosa26-표적 부위-D3	CCTGCAGGGGAGTGAGCAGCTG
7219	MG3-6-hRosa26-표적 부위-E3	ACTCCGATTAGTTTATCTTCCC
7220	MG3-6-hRosa26-표적 부위-F3	TCCCACGGACTAGAGTTGGTGT
7221	MG3-6-hRosa26-표적 부위-G3	AAATGGAGCTTAGTCATTCACC
7222	MG3-6-hRosa26-표적 부위-H3	ACCTGGGGCTGATTTTATGCAA
7223	MG3-6-hRosa26-표적 부위-A4	GCTGATTTTATGCAACGAGACT
7224	MG3-6-hRosa26-표적 부위-B4	ATCACCTGAGTTTTATACCATT
7225	MG3-6-hRosa26-표적 부위-C4	GCTGCACCACCAAAGTGTAGCA
7226	MG3-6-hRosa26-표적 부위-D4	TTCCCTCCCTCACCCTCTCTCC
7227	MG3-6-hRosa26-표적 부위-E4	GCCTGGTGTCTCGCGAAACCAG

[0707]

서열 번호	명칭	서열
7228	MG3-6-hRosa26-표적 부위-F4	ACAGATTGGTTCCACCACAAAT
7229	MG3-6-hRosa26-표적 부위-G4	CACCACAAATTAAGGCTTGAGC
7230	MG3-6-hRosa26-표적 부위-H4	CATTTTATCCTTTTTCCTTAGC
r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합		

[0708]

[0709] **예 25 - K562 세포에서의 TRAC 및 AAVS1에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0710] 일치하는 가이드 RNA(500 ng mRNA/150 pmol 가이드)와 함께 MG21-1, MG23-1, MG73-1, MG89-2, 및 MG71-2 mRNA의 핵감염을 Lonza 4D 전기천공기를 사용하여 K562 세포(200,000) 내로 수행하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 18**).

[0711] 표 15:

TRAC 를 표적화할 때 예 25 에 대해 표적화된 가이드 RNA 및 서열

서열 번호	명칭	서열
7231	MG21-1-TRAC-sgRNA-H9	mC*mA*mC*rCrUrUrCrUrUrCrCrCrCrArGrCrCrCrArGrGrUrGrUrUrGrUrArGrUrUrCrCrCrCrUrUrUrUrGrArArArArArArArGrUrGrUrGrUrUrArCrUrGrCrArArUrArArGrGrUrArArArArCrArCrCrCrArCrGrArArGrCrUrCrUrGrCrCrCrUrArArCrUrGrCrCrUrUrArGrCrArGrUrUrArGrGrGrCrArUrC*mU*mU*mU
7232	MG21-1-TRAC-sgRNA-B7	mC*mA*mA*rGrArGrCrArArCrArGrUrGrCrUrGrUrGrGrCrCrGrUrUrGrUrArGrUrUrCrCrCrCrUrUrUrUrGrArArArArArArArGrUrGrUrGrUrUrArCrUrGrCrArArUrArArGrGrUrArArArArCrArCrCrCrArCrGrArArGrCrUrCrUrGrCrCrCrUrArArCrUrGrCrCrUrUrArGrCrArGrUrUrArGrGrGrCrArUrC*mU*mU*mU
7233	MG21-1-TRAC-sgRNA-D6	mA*mG*mA*rCrArUrGrArGrGrUrCrUrArUrGrGrArCrUrUrCrGrUrUrGrUrArGrUrUrCrCrCrCrUrUrUrUrGrArArArArArArArGrUrGrUrGrUrUrArCrUrGrCrArArUrArArGrGrUrArArArArCrArCrCrCrArCrGrArArGrCrUrCrUrGrCrCrCrUrArArCrUrGrCrCrUrUrArGrCrArGrUrUrArGrGrGrCrArUrC*mU*mU*mU
7234	MG21-1-TRAC-sgRNA-C10	mC*mC*mA*rArArGrCrUrGrCrCrCrUrUrArCrCrUrGrGrGrCrGrUrUrGrUrArGrUrUrCrCrCrCrUrUrUrUrGrArArArArArArArGrUrGrUrGrUrUrArCrUrGrCrArArUrArArGrGrUrArArArArCrArCrCrCrArCrGrArArGrCrUrCrUrGrCrCrCrUrArArCrUrGrCrCrUrUrArGrCrArGrUrUrArGrGrGrCrArUrC*mU*mU*mU
7235	MG21-1-TRAC-표적 부위-H9	CACCTTCTTCCCCAGCCCAGGT
7236	MG21-1-TRAC-표적 부위-B7	CAAGAGCAACAGTGCTGTGGCC
7237	MG21-1-TRAC-표적 부위-D6	AGACATGAGGTCTATGGACTTC
7238	MG21-1-TRAC-표적 부위-C10	CCAAAGCTGCCCTTACCTGGGC
7239	MG23-1-TRAC-sgRNA-E1	mC*mC*mG*rUrGrUrArCrCrArGrCrUrGrArGrArGrArCrUrCrGrUrUrUrGrArGrArArArArGrGrUrGrArGrUrGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArGrGrCrArArUrUrGrCrArGrArArArGrArArGrGrCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7240	MG23-1-TRAC-sgRNA-H8	mU*mU*mG*rGrGrUrUrCrCrGrArArUrCrCrUrCrCrUrCrCrUrGrUrUrUrGrArGrArArArArGrGrUrGrArGrUrGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArGrGrCrArArUrUrGrCrArGrArArArGrArArGrGrCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7241	MG23-1-TRAC-sgRNA-A3	mA*mC*mA*rGrUrGrCrUrGrUrGrGrCrCrUrGrGrArGrCrArArGrUrUrGrArGrArArArGrGrUrGrArGrUrGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArGrGrCrArArUrUrGrCrArGrArArArGrArArGrGrCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7242	MG23-1-TRAC-sgRNA-C10	mU*mG*mA*rArArGrUrUrUrArGrGrUrUrCrGrUrArUrCrUrGrGrUrGrArGrArArCrCrUrGrArArArArGrGrUrGrArGrUrGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArGrGrCrArArUrUrGrCrArGrArArArGrArArGrGrCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7243	MG23-1-TRAC-sgRNA-H7	mG*mC*mU*rUrGrArCrArUrCrArCrArGrGrArArCrUrUrUrCrGrUrUrUrGrArGrArArArCrCrUrGrArArArArGrGrUrGrArGrU

[0712]

서열 번호	명칭	서열
		rGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArArCrCrGrArArArUrUrG rUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArArG rArArArGrArCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7244	MG23-1-TRAC-sgRNA-B10	mA*mA*mC*rCrCrArArUrCrArCrUrGrArCrArGrGrUrUrUrU rGrUrUrUrGrArGrArArCrCrUrGrArArArArGrGrUrGrArGrU rGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArArCrCrGrArArArUrUrG rUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArArG rArArArGrArCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7245	MG23-1-TRAC-sgRNA-H6	mC*mC*mU*rGrUrGrArUrGrUrCrArArGrCrUrGrGrUrCrGr ArGrUrUrUrGrArGrArArCrCrUrGrArArArArGrGrUrGrArGr UrGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArArCrCrGrArArArUrUr GrUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArAr GrArArArGrArCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7246	MG23-1-TRAC-sgRNA-E7	mU*mA*mG*rArCrCrCrCrUrGrUrCrUrUrArCrCrUrGrUrUrU rGrUrUrUrGrArGrArArCrCrUrGrArArArArGrGrUrGrArGrU rGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArArCrCrGrArArArUrUrG rUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArArG rArArArGrArCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7247	MG23-1-TRAC-sgRNA-C9	mA*mG*mC*rCrGrCrArGrCrGrUrCrArUrGrArGrCrArGrAr UrGrUrUrUrGrArGrArArCrCrUrGrArArArArGrGrUrGrArGr UrGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArArCrCrGrArArArUrUr GrUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArAr GrArArArGrArCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7248	MG23-1-TRAC-표적 부위-E1	CCGTGTACCAGCTGAGAGACTC
7249	MG23-1-TRAC-표적 부위-H8	TTGGGTTCCGAATCCTCCTCCT
7250	MG23-1-TRAC-표적 부위-A3	ACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAA
7251	MG23-1-TRAC-표적 부위-C10	TGAAAGTTTAGGTTCGTATCTG
7252	MG23-1-TRAC-표적 부위-H7	GCTTGACATCACAGGAACTTTC
7253	MG23-1-TRAC-표적 부위-B10	AACCCAATCACTGACAGGTTTT
7254	MG23-1-TRAC-표적 부위-H6	CCTGTGATGTCAAGCTGGTCGA
7255	MG23-1-TRAC-표적 부위-E7	TAGACCCCTGTCTTACCTGTTT
7256	MG23-1-TRAC-표적 부위-C9	AGCCGCAGCGTCATGAGCAGAT
7269	MG73-1-TRAC-sgRNA-G3	mU*mC*mU*rUrGrGrUrUrUrUrArCrArGrArUrArCrGrArArC rCrUrGrUrUrArUrArGrUrGrGrGrArArArUrCrArCrUrArUrA rArUrArArGrUrGrArArArUrCrGrCrArArGrGrCrUrCrUrGrU rUrCrUrUrGrArArCrArUrCrCrUrUrArUrUrArUrArArArArAr CrUrCrCrUrGrCrCrArArUrCrGrGrUrUrGrGrGrArGrU*mU* mU*mU
7270	MG73-1-TRAC-표적 부위-G3	TCTTGGTTTTACAGATACGAACCT
7271	MG89-2-TRAC-sgRNA-F1	mA*mU*mA*rUrCrCrArGrArArCrCrCrUrGrArCrCrCrUrGrC rCrGrGrUrUrGrUrArGrCrUrUrCrCrUrUrGrArArGrArArArU rUrCrArArCrGrUrUrGrUrUrArCrArArUrArArGrGrUrUrUrUr CrGrArArArGrArUrUrArCrCrGrArArCrCrCrGrCrCrCrUrCr ArCrUrUrArGrGrUrGrArGrGrGrCrU*mU*mU*mU

[0713]

서열 번호	명칭	서열
7272	MG89-2-TRAC-sgRNA-G5	mG*mG*mC*rCrArCrUrUrUrCrArGrGrArGrGrArGrGrArUrUrCrGrGrUrUrGrUrArGrCrUrUrCrCrUrUrGrArArGrArArArUrUrCrArArCrGrUrUrGrUrUrArCrArArUrArArGrGrUrUrUrUrCrGrArArArGrArUrUrArCrCrGrArArCrCrCrGrCrCrCrUrCrArCrUrUrArGrGrUrGrArGrGrGrCrU*mU*mU*mU
7273	MG89-2-TRAC-sgRNA-E5	mC*mG*mC*rArGrCrGrUrCrArUrGrArGrCrArGrArUrUrArArArCrGrUrUrGrUrArGrCrUrUrCrCrUrUrGrArArGrArArArUrUrCrArArCrGrUrUrGrUrUrArCrArArUrArArGrGrUrUrUrUrCrGrArArArGrArUrUrArCrCrGrArArCrCrCrGrCrCrCrUrCrArCrUrUrArGrGrUrGrArGrGrGrCrU*mU*mU*mU
7274	MG89-2-TRAC-sgRNA-F5	mC*mG*mG*rCrCrArCrUrUrUrCrArGrGrArGrGrArGrGrArUrUrCrGrUrUrGrUrArGrCrUrUrCrCrUrUrGrArArGrArArArUrUrCrArArCrGrUrUrGrUrUrArCrArArUrArArGrGrUrUrUrUrCrGrArArArGrArUrUrArCrCrGrArArCrCrCrGrCrCrCrUrCrArCrUrUrArGrGrUrGrArGrGrGrCrU*mU*mU*mU
7275	MG89-2-TRAC-sgRNA-G1	mG*mC*mC*rGrUrGrUrArCrCrArGrCrUrGrArGrArGrArCrUrCrUrGrUrUrGrUrArGrCrUrUrCrCrUrUrGrArArGrArArArUrUrCrArArCrGrUrUrGrUrUrArCrArArUrArArGrGrUrUrUrUrCrGrArArArGrArUrUrArCrCrGrArArCrCrCrGrCrCrCrUrCrArCrUrUrArGrGrUrGrArGrGrGrCrU*mU*mU*mU
7276	MG89-2-TRAC-sgRNA-E1	mC*mC*mC*rArCrArGrArUrArUrCrCrArGrArArCrCrCrUrGrArCrGrUrUrGrUrArGrCrUrUrCrCrUrUrGrArArGrArArArUrUrCrArArCrGrUrUrGrUrUrArCrArArUrArArGrGrUrUrUrUrCrGrArArArGrArUrUrArCrCrGrArArCrCrCrGrCrCrCrUrCrArCrUrUrArGrGrUrGrArGrGrGrCrU*mU*mU*mU
7277	MG89-2-TRAC-sgRNA-B1	mA*mU*mC*rCrUrCrUrUrGrUrCrCrCrArCrArGrArUrArUrCrCrArGrUrUrGrUrArGrCrUrUrCrCrUrUrGrArArGrArArArUrUrCrArArCrGrUrUrGrUrUrArCrArArUrArArGrGrUrUrUrUrCrGrArArArGrArUrUrArCrCrGrArArCrCrCrGrCrCrCrUrCrArCrUrUrArGrGrUrGrArGrGrGrCrU*mU*mU*mU
7278	MG89-2-TRAC-표적 부위-F1	ATATCCAGAACCCTGACCCTGCCG
7279	MG89-2-TRAC-표적 부위-G5	GGCCACTTTCAGGAGGAGGATTCG
7280	MG89-2-TRAC-표적 부위-E5	CGCAGCGTCATGAGCAGATTAAAC
7281	MG89-2-TRAC-표적 부위-F5	CGGCCACTTTCAGGAGGAGGATTC
7282	MG89-2-TRAC-표적 부위-G1	GCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCT
7283	MG89-2-TRAC-표적 부위-E1	CCCACAGATATCCAGAACCCTGAC
7284	MG89-2-TRAC-표적 부위-B1	ATCCTCTTGTCCCACAGATATCCA
r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합		

[0714]

[0715] 표 16:

AAVS1을 표적화할 때 예 25에 대해 표적화된 가이드 RNA 및 서열

서열 번호	명칭	서열
7257	MG23-1-AAVS1-sgRNA-B1	mG*mC*mU*rArCrUrGrGrCrCrUrUrArUrCrUrCrArCrArGrGrGrUrUrUrGrArGrArArCrCrUrGrArArArArGrGrUrGrArGrUrGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArArCrCrGrArArArUrUrGrUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArArGrArArArGrArGrArCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7258	MG23-1-AAVS1-sgRNA-C1	mC*mU*mA*rCrUrGrGrCrCrUrUrArUrCrUrCrArCrArGrGrGrUrGrUrUrGrArGrArArCrCrUrGrArArArArGrGrUrGrArGrUrGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArArCrCrGrArArArUrUrGrUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArArGrArArArGrArGrArCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7259	MG23-1-AAVS1-sgRNA-G1	mA*mC*mU*rGrArCrGrCrArCrGrGrArGrGrGrArArCrArArUrArGrGrUrUrUrGrArGrArArCrCrUrGrArArArArGrGrUrGrArGrUrGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArArCrCrGrArArArUrUrGrUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArArGrArArArGrArGrArCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7260	MG23-1-AAVS1-sgRNA-B2	mG*mG*mA*rArCrArArUrArUrArArArArUrUrGrGrGrGrArCrUrGrUrUrUrGrArGrArArCrCrUrGrArArArArGrGrUrGrArGrUrGrCrArArArUrArArGrGrUrUrUrArArCrCrGrArArArUrUrGrUrUrUrArCrCrUrGrCrArUrUrGrUrGrCrArGrUrArUrArArGrArArArGrArGrArCrCrGrCrGrArGrGrUrCrU*mU*mU*mU
7261	MG23-1-AAVS1-표적 부위-B1	GCTACTGGCCTTATCTCACAGG
7262	MG23-1-AAVS1-표적 부위-C1	CTACTGGCCTTATCTCACAGGT
7263	MG23-1-AAVS1-표적 부위-G1	ACTGACGCACGGAGGAACAATA
7264	MG23-1-AAVS1-표적 부위-B2	GGAACAATATAAATTGGGGACT
7265	MG71-2-AAVS1-sgRNA-C3	mG*mG*mA*rGrArGrGrGrUrArGrCrGrCrArGrGrGrUrGrGrUrUrUrGrArGrArArArUrCrArCrGrArGrUrUrCrArArArArArCrArUrGrArUrUrUrArUrUrCrArArArCrCrGrUrCrUrUrCrUrUrCrGrGrArArGrGrCrCrCrArCrArGrUrGrUrGrUrGrArGrArArGrCrArGrUrArUrArArGrCrUrUrGrCrUrUrCrGrGrCrArArGrCrU*mU*mU*mU
7266	MG71-2-AAVS1-sgRNA-E2	mG*mC*mC*rCrUrGrCrCrArGrGrArCrGrGrGrGrCrUrGrGrUrUrUrGrArGrArArArUrCrArCrGrArGrUrUrCrArArArArArCrArUrGrArUrUrUrArUrUrCrArArArCrCrGrUrCrUrUrCrUrUrCrGrGrArArGrGrCrCrCrArCrArGrUrGrUrGrUrGrArGrArArGrCrArGrUrArUrArArGrCrUrUrGrCrUrUrCrGrGrCrArArGrCrU*mU*mU*mU
7267	MG71-2-AAVS1-표적 부위-C3	GGAGAGGGTAGCGCAGGGTG
7268	MG71-2-AAVS1-표적 부위-E2	GCCCTGCCAGGACGGGGCTG
r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합		

[0716]

[0717] **예 26 - Hep3B 세포의 mRNA 형질감염을 사용하여 인간 HAO-1 유전자에 대한 MG3-6 뉴클레아제 가이드 스크리닝하기**

[0718] PAM 서열 5' NNRGRYY 3'을 검색함으로써, 인간 HAO-1 유전자(글리콜레이트 옥시다아제를 암호화함)의 엑손 1 내지 4를 표적화하는 MG3-6 뉴클레아제에 대한 가이드 RNA를 *가상 환경에서* 식별하였다. 인간 게놈에서 가장 적은 예측된 표적 외 부위를 갖는 총 21개의 가이드를 AltR1/AltR2 말단 변형(IDT)을 갖는 단일 가이드 RNA로서 화학적으로 합성하였다. sgRNA의 전체 서열은 서열번호 11352-11372이다.

[0719] 표 17:

예 26 에 사용된 가이드 서열

서열번호	엔티티 명칭	서열
11352	hH36-1	AAUUAGCCGGGGGAGCAUUUUCGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11353	hH36-2	CCCAGACCUGUAAUAGUCAUAUGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11354	hH36-3	CCAAAGUCUAUAUAUGACUAUUGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11355	hH36-4	CAAAGUUUCUUCAUCAUUUGCCGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11356	hH36-5	GAUGCUCCGGAAUGUUGCUGAAGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11357	hH36-6	CUCUGUCCUAAAACAGAAGUCGGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11358	hH36-7	UGUCGACUUCUGUUUUAGGACAGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11359	hH36-8	GGGUCAGCAUGCCAAUAUGUGUGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11360	hH36-9	UCAUGCCCGUUCCCAGGGACUGGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11361	hH36-10	ACUCAACAUCAUGCCCGUUCCCGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11362	hH36-11	GAACGGGCAUGAUGUUGAGUUCGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11363	hH36-12	AGUUGCAGCCAACGAAGUGCCUGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11364	hH36-13	UUGGCUGCAACUGUAUAUCUACGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11365	hH36-14	GCUAGUGCGGCAGGCAGAGAAGGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11366	hH36-15	GGCAGGCAGAGAAGAUGGGCUAGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11367	hH36-16	AACCGUCUGGAUGAUGUGCGUAGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11368	hH36-17	GAGGAAAAUUUUGGAGACGACAGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11369	hH36-18	UGCUGCAUAUGUGGCUAAAGCAGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU

[0720]

서열번호	엔티티 명칭	서열
11370	hH36-19	UUGAUAUCUUCCCAGCUGAUAGGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11371	hH36-20	UGGGAAGAUAUCAAAUGGCUGAGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU
11372	hH36-21	AAUUGUUGCAAAGGGCAUUUUGGUUGAGAAUCGAAAGAUUCUUAAUAAG GCAUCCUUCCGAUGCUGACUUCUCACCGUCCGUUUUCCAAUAGGAGCGG GCGGUAUGUUUU

[0721]

[0722] *Hep3B 형질감염 프로토콜*

[0723] MG3-6을 암호화하는 mRNA는 MG3-6의 암호화 서열이 클로닝된 플라스미드의 T7 중합효소 시험관 내 전사에 의해 생성하였다. MG3-6 암호화 서열을 인간 코돈 사용 테이블을 사용하여 코돈 최적화하고, (N-말단에서의) SV40 및 (C-말단에서의) 뉴클레오플라스민으로부터 유래된 핵 국소화 신호의 측면에 위치시켰다. 또한, 5' 미번역 영역(5' UTR)을 암호화 서열의 5' 말단에 포함시켜 번역을 개선하였다. 3' UTR에 이어서 약 90 내지 110개의 뉴클레오티드 폴리A 관을 암호화 서열의 3' 말단에서 mRNA(플라스미드에 암호화됨)에 포함시켜 생체 내 mRNA 안정성을 개선하였다. 폴리A 꼬리가 없는 MG3-6 mRNA를 암호화하는 DNA 서열은 서열번호 22에 제시되어 있다. 시험관 내 전사 반응은 Clean Cap® 캡핑 시약(Trilink BioTechnologies)을 포함하였으며, 생성된 RNA는 MEGAClear™ Transcription Clean-Up 키트(Invitrogen)를 사용하여 정제되고, TapeStation(Agilent)을 사용하여 순도가 평

가되었으며, 이는 >90% 전장 RNA로 구성되는 것으로 밝혀졌다.

[0724] 다음과 같이, 300 ng의 MG3-6 mRNA 및 120 ng의 각 단일 가이드 RNA를 Hep3B 세포 내로 형질감염시켰다. 형질감염 하루 전에, 페니실린/스트렙토마이신이 없는 EMEM-10% FBS-2 mM 글루타민-1% NEAA 배지에서 10일 미만 동안 배양한 Hep3B 세포를 TC-처리한 24 웰 플레이트 내에 시딩하였다. 세포를 계수하고, 60,000개의 생존 세포에 해당하는 부피를 각 웰에 첨가하였다. 추가의 사전 평형화된 배지를 각 웰에 첨가하여 총 부피를 500 μL로 만들었다. 형질감염 당일에, 25 μL의 OptiMEM 배지 및 1.25 ul의 Lipofectamine Messenger Max 용액(Thermo Fisher)을 마스터 믹스 용액에서 혼합하고, 와동시키고, 실온에서 적어도 5분 동안 방치하였다. 별도의 튜브에서, 300 ng의 MG3-6/3-4 mRNA 및 120 ng의 sgRNA를 25 μL의 OptiMEM 배지와 혼합하고 잠시 와동하였다. 적절한 부피의 MessengerMax 용액을 각각의 RNA 용액에 첨가하고, 튜브를 가볍게 흔들어 혼합하고, 저속으로 잠깐 회전시켰다. 완전한 편집 시약 용액을 실온에서 10분 동안 인큐베이션한 다음, Hep3B 세포에 직접 첨가하였다. 형질감염 후 2일차에, Hep3B 세포의 각 웰로부터 배지를 흡인하고, MagMAX™ DNA Multi-Sample Ultra 2.0 키트가 구비된 KingFisher Flex 로봇을 통해 자동화된 자기 비드 정제에 의해 게놈 DNA를 정제하였다.

[0725] ***Sanger* 시퀀싱에 의한 PCR 증폭 및 편집 분석**

[0726] 상이한 sgRNA에 의해 표적화된 HAO-1 유전자 서열을 표 18의 엑손-특이적 프라이머 및 Phusion Flash High-Fidelity PCR Master Mix(Thermo Fisher)를 사용하여 정제된 게놈 DNA로부터 PCR로 증폭시켰다.

[0727] **표 18:**

인간 HAO1 유전자용으로 설계되어, 첫 4 개의 엑손 각각에서의 PCR 및 Sanger 시퀀싱에 사용되는 프라이머.

표적 엑손	용도	프라이머 명칭	프라이머 서열
인간 HAO1 엑손 1	순방향 PCR	PCR_hHe1_F_+490	TTTCATGGATGCCCCGTTCA
	역방향 PCR	PCR_hHe1_R_-412	ACGAAAAGCCAGCAGGAAGA
	시퀀싱	Seq_hHe1_R_-121	AGCCCCAAGAACTTTTCCCT
인간 HAO1 엑손 2	순방향 PCR	PCR_hHe2_F_+391	TGCATCAGTGGTTGTCAGGG
	역방향 PCR	PCR_hHe2_R_-387	CCTAGCTGTGACTTTGGGCA
	시퀀싱	Seq_hHe2_R_-152	TGGAAAGAAGAGGAGCAGGAC
인간 HAO1 엑손 3	순방향 PCR	PCR_hHe3_F_+238	AGGCTGGATGTTCAGGTTCTT
	역방향 PCR	PCR_hHe3_R_-212	TCCCAAAGCCAAAGCCCTTA
	시퀀싱	Seq_hHe3_F_+186	AGCAGAAATAACTCCAGTAGCCA
인간 HAO1 엑손 4	순방향 PCR	PCR_hHe4_F_+324	GCTGGCTGAAAATCGTGTCAA
	역방향 PCR	PCR_hHe4_R_-348	TCCTTGGGGCTTCTCTTTGG
	시퀀싱	Seq_hHe4_F_+174	ACTGATTAAGACCACTAGAGTATCACA

[0728]

[0729] DNA 세정 및 농축기 5(DNA clean & concentrator 5, Zymo Research)를 사용해 PCR 산물을 정제하여 농축시키고 40 ng의 PCR 산물을 Sanger 시퀀싱(ELIM Biosciences)하였다.

[0730] Sanger 시퀀싱 크로마토그램은 Brinkman 등 문헌(Nucleic Acids Res. 2014 Dec 16; 42(22): e168.2014년 10월 9일에 온라인에 공개됨. doi: 10.1093/nar/gku936)에 기술된 바와 같은 TIDE(Tracking of Indels by DEcomposition) 알고리즘에 의해 각 sgRNA에 대한 예측된 표적 부위에서 삽입 및 결실(INDELS)에 대해 분석되었다. 이러한 스크린 가이드로부터, hH364-1, 14, 및 15는 Hep3B 세포에서 가장 높은 편집 활성을 갖는 것으로 식별되었다(**도19** 및 표 19).

[0731] 표 19:

mRNA 형질감염에 의해 전달된 인간 HAO1 에서 MG3-6 가이드의 평균 활성

가이드 명칭	PAM	스페이서 서열	Hep3B 에서의 편집 활성 (평균 indel (%))	스페이서 서열 서열번호
hH36-1	ACAGGTT	AATTAGCCGGGGGAGCATTTTC	34.0	11773
hH36-2	ATAGACT	CCCAGACCTGTAATAGTCATAT	0.0	11774
hH36-3	ACAGGTC	CCAAAGTCTATATATGACTATT	4.0	11775
hH36-4	CCAGACC	CAAAGTTTCTTCATCATTTGCC	0.0	11776
hH36-5	ACAGATC	GATGCTCCGGAATGTTGCTGAA	0.0	11777
hH36-6	ACAGATC	CTCTGTCCTAAAACAGAAGTCG	0.0	11778
hH36-7	GAGGGTC	TGTCGACTTCTGTTTTAGGACA	1.0	11779
hH36-8	GGGGGCT	GGGTCAGCATGCCAATATGTGT	10.5	11780
hH36-9	ACAGGCT	TCATGCCCGTTCCCAGGGACTG	0.0	11781
hH36-10	AGGGACT	ACTCAACATCATGCCCGTTCCC	0.0	11782
hH36-11	CTGGGCC	GAACGGGCATGATGTTGAGTTC	0.0	11783
hH36-12	CAGGACC	AGTTGCAGCCAACGAAGTGCCT	0.0	11784
hH36-13	AAGGACC	TTGGCTGCAACTGTATATCTAC	0.0	11785
hH36-14	ATGGGCT	GCTAGTGCGGCAGGCAGAGAAG	19.5	11786
hH36-15	CAAGGCC	GGCAGGCAGAGAAGATGGGCTA	14.5	11787
hH36-16	ACAGATT	AACCGTCTGGATGATGTGCGTA	0.0	11788
hH36-17	GTGGACT	GAGGAAAATTTTGGAGACGACA	0.0	11789
hH36-18	ATAGACC	TGCTGCATATGTGGCTAAAGCA	0.0	11790
hH36-19	ATGGGTC	TTGATATCTTCCCAGCTGATAG	8.5	11791

[0732]

가이드 명칭	PAM	스페이서 서열	Hep3B 에서의 편집 활성 (평균 indel (%))	스페이서 서열 서열번호
hH36-20	GAAGACT	TGGGAAGATATCAAATGGCTGA	0.0	11792
hH36-21	AGAGGTT	AATTGTTGCAAAGGGCATTTTG	5.0	11793

[0733]

[0734] 예 27 - 인간 GPR146에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과

[0735] Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, MG3-6 RNP(104 pmol 단백질/120 pmol 가이드)(서열번호 11374-11405)를 Hep3B 세포(100,000) 내로 핵감염 하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA(서열번호 11406-11437)에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 20**).

[0736] 표 20:

GPR146 을 표적화할 때 예 25 에 대해 표적화된 가이드 RNA 및 서열

서열번호	명칭	서열
11374	MG3-6-인간 GPR146-A1	mA*mG*mC*rUrGrCrArGrCrUrGrGrUrUrCrArArCrGrGrCrA rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11375	MG3-6-인간 GPR146-B1	mG*mG*mU*rGrGrArGrGrArGrCrUrGrCrCrUrGrCrCrUrGrC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11376	MG3-6-인간 GPR146-C1	mC*mC*mU*rGrCrCrUrGrCrCrArGrGrArCrCrUrGrCrArGrC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11377	MG3-6-인간 GPR146-D1	mG*mG*mG*rGrCrUrGrUrCrArCrUrGrUrUrGrUrCrGrCrUrG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11378	MG3-6-인간 GPR146-E1	mG*mG*mG*rCrCrUrGrGrUrGrGrUrGrGrCrGrUrGrCrCr ArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr UrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUr UrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGr ArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11379	MG3-6-인간 GPR146-F1	mU*mG*mG*rUrGrCrUrGrGrCrCrArArCrCrUrArCrArCrArG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11380	MG3-6-인간 GPR146-G1	mG*mU*mA*rCrUrUrUrGrUrCrArArCrArUrGrGrCrArGrUrG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11381	MG3-6-인간 GPR146-H1	mG*mC*mG*rGrCrGrArArGrUrCrCrArCrGrUrGrGrCrArCrU rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11382	MG3-6-인간 GPR146-A2	mA*mC*mU*rArCrArUrCrGrArGrCrGrUrGrCrArCrUrGrCrC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11383	MG3-6-인간 GPR146-B2	mC*mG*mU*rCrCrGrCrArGrGrGrArGrGrArCrArCrGrCrCrC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11384	MG3-6-인간 GPR146-C2	mG*mG*mA*rCrArCrGrCrCrCrCrUrGrGrArCrCrGrGrGrArC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0737]

서열번호	명칭	서열
11385	MG3-6-인간 GPR146-D2	mG*mG*mC*rCrGrGrCrUrGrGrArGrCrCrCrUrCrGrGrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11386	MG3-6-인간 GPR146-E2	mG*mU*mG*rGrCrCrArCrCrGrUrGrUrGrCrArCrGrCrArGrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11387	MG3-6-인간 GPR146-F2	mA*mA*mG*rCrCrCrGrUrGrGrArCrGrCrArCrArCrUrArCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11388	MG3-6-인간 GPR146-G2	mC*mC*mU*rGrGrGrGrCrUrArCrUrGrCrArCrUrUrUrGrUrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11389	MG3-6-인간 GPR146-H2	mG*mC*mU*rGrArUrGrArArArArArGrCrUrGrCrCrCrUrGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11390	MG3-6-인간 GPR146-A3	mC*mU*mG*rCrGrGrGrGrArCrCrGrGrCrArCrUrGrCrUrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11391	MG3-6-인간 GPR146-B3	mG*mU*mG*rGrUrGrUrCrArCrArArArGrCrUrGrCrUrGrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11392	MG3-6-인간 GPR146-C3	mU*mA*mG*rCrCrCrCrArGrGrUrArGrUrGrUrGrCrGrUrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11393	MG3-6-인간 GPR146-D3	mA*mG*mA*rUrGrArUrGrArCrCrGrUrGrUrGrCrCrCrCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11394	MG3-6-인간 GPR146-E3	mG*mG*mC*rCrArCrCrArGrCrArGrCrCrUrGrUrGrUrGrCrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11395	MG3-6-인간 GPR146-F3	mG*mC*mG*rUrGrUrUrGrUrArCrArCrGrCrUrGrGrCrCrArUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11396	MG3-6-인간 GPR146-G3	mA*mG*mU*rGrCrArCrGrCrUrCrGrArUrGrUrArGrUrGrGrUrGrUrArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr

[0738]

서열번호	명칭	서열
		ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11397	MG3-6-인간 GPR146-H3	mC*mC*mA*rCrCrArGrUrGrArGrGrArCrArCrArUrUrGrArArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11398	MG3-6-인간 GPR146-A4	mU*mG*mA*rArGrGrGrGrArUrCrUrGrCrArGrUrGrCrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11399	MG3-6-인간 GPR146-B4	mC*mA*mC*rArGrCrGrCrCrCrArCrCrGrGrGrArGrCrUrCrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11400	MG3-6-인간 GPR146-C4	mU*mC*mG*rGrGrGrGrGrCrCrGrArGrCrArGrGrUrGrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11401	MG3-6-인간 GPR146-D4	mA*mC*mA*rGrGrGrGrCrCrArGrGrGrCrGrCrUrGrArGrCrArGrUrGrArArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11402	MG3-6-인간 GPR146-E4	mA*mU*mG*rGrUrCrArUrGrCrUrGrGrCrCrUrUrGrCrUrGrUrGrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11403	MG3-6-인간 GPR146-F4	mA*mG*mC*rArCrCrArGrCrArGrGrGrCrGrUrUrGrUrArGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11404	MG3-6-인간 GPR146-G4	mA*mG*mG*rCrCrCrArCrUrGrGrCrArCrGrCrCrCrArCrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11405	MG3-6-인간 GPR146-H4	mG*mA*mC*rArArCrArGrUrGrArCrArGrCrCrCrCrArGrCrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11406	MG3-6-인간 GPR146-A1	AGCTGCAGCTGGTTCAACGGCA
11407	MG3-6-인간 GPR146-B1	GGTGGAGGAGCTGCCTGCCTGC
11408	MG3-6-인간 GPR146-C1	CCTGCCTGCCAGGACCTGCAGC
11409	MG3-6-인간 GPR146-D1	GGGGCTGTCACTGTTGTCGCTG

[0739]

서열번호	명칭	서열
11410	MG3-6-인간 GPR146-E1	GGGCCTGGTGGTGGGCGTGCCA
11411	MG3-6-인간 GPR146-F1	TGGTGCTGGCCAACCTACACAG
11412	MG3-6-인간 GPR146-G1	GTACTTTGTCAACATGGCAGTG
11413	MG3-6-인간 GPR146-H1	GCGGCGAAGTCCACGTGGCACT
11414	MG3-6-인간 GPR146-A2	ACTACATCGAGCGTGCACTGCC
11415	MG3-6-인간 GPR146-B2	CGTCCGCAGGGAGGACACGCCC
11416	MG3-6-인간 GPR146-C2	GGACACGCCCCTGGACCGGGAC
11417	MG3-6-인간 GPR146-D2	GGCCGGCTGGAGCCCTCGGCAC
11418	MG3-6-인간 GPR146-E2	GTGGCCACCGTGTGCACGCAGT
11419	MG3-6-인간 GPR146-F2	AAGCCCGTGGACGCACACTACC
11420	MG3-6-인간 GPR146-G2	CCTGGGGCTACTGCACTTTGTG
11421	MG3-6-인간 GPR146-H2	GCTGATGAAAAAGCTGCCCTGC
11422	MG3-6-인간 GPR146-A3	CTGCGGGGACCGGCACTGCTCC
11423	MG3-6-인간 GPR146-B3	GTGGTGTCACAAAGCTGCTGGA
11424	MG3-6-인간 GPR146-C3	TAGCCCCAGGTAGTGTGCGTCC
11425	MG3-6-인간 GPR146-D3	AGATGATGACCGTGTGCCCCAG
11426	MG3-6-인간 GPR146-E3	GGCCACCAGCAGCCTGTGTGCC
11427	MG3-6-인간 GPR146-F3	GCGTGTTGTACACGCTGGCCAT
11428	MG3-6-인간 GPR146-G3	AGTGCACGCTCGATGTAGTGGT
11429	MG3-6-인간 GPR146-H3	CCACCAGTGAGGACACATTGAA
11430	MG3-6-인간 GPR146-A4	TGAAGGGGATCTGCAGTGCCAC
11431	MG3-6-인간 GPR146-B4	CACAGCGCCCACCGGGAGCTCG
11432	MG3-6-인간 GPR146-C4	TCGGGGGGCCGAGCAGGTGCAC
11433	MG3-6-인간 GPR146-D4	ACAGGGGCCAGGGCGCTGAGCA
11434	MG3-6-인간 GPR146-E4	ATGGTCATGCTGGCCTTGCTGT

[0740]

서열번호	명칭	서열
11435	MG3-6-인간 GPR146-F4	AGCACCAGCAGGGCGTTGTAGC
11436	MG3-6-인간 GPR146-G4	AGGCCCACTGGCACGCCCACCA
11437	MG3-6-인간 GPR146-H4	GACAACAGTGACAGCCCCAGCT
r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합		

[0741]

[0742] **예 28 - Hepa1-6 세포에서 마우스 GPR146에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0743] Lonza 4D 전기천공기를 사용하여, Hepa1-6 세포(100,000) 내로의 MG3-6 RNP(104 pmol 단백질/120 pmol 가이드)(서열번호 11438-11472)의 핵감염을 수행하였다. 형질감염 후 5일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA(서열번호 11473-11507)에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 21**).

[0744] 표 21:

GPR146 을 표적화할 때 예 25 에 대해 표적화된 가이드 RNA 및 서열

서열번호	명칭	서열
11438	MG3-6-마우스 GPR146-A1	mG*mU*mG*rGrCrCrCrArCrUrCrArArCrArGrCrArCrArGrC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11439	MG3-6-마우스 GPR146-B1	mC*mC*mG*rCrUrGrUrGrCrCrGrGrArArCrCrUrGrCrGrCrC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11440	MG3-6-마우스 GPR146-C1	mG*mC*mC*rGrGrArArCrCrUrGrCrGrCrCrUrGrGrGrGrCrU rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11441	MG3-6-마우스 GPR146-D1	mU*mC*mU*rCrGrCrUrGrCrUrCrUrArCrCrUrGrGrGrGrCrC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11442	MG3-6-마우스 GPR146-E1	mG*mG*mG*rGrGrCrArGrGrGrGrUrCrCrCrUrGrUrGrArGr CrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr UrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUr UrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGr ArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11443	MG3-6-마우스 GPR146-F1	mU*mA*mC*rUrUrCrGrUrGrArArCrArUrGrGrCrCrGrUrGrG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11444	MG3-6-마우스 GPR146-G1	mG*mG*mC*rArCrUrGrGrCrArCrCrUrGrCrGrUrArCrCrUrG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11445	MG3-6-마우스 GPR146-H1	mU*mG*mU*rUrGrGrGrCrCrCrUrGrCrCrCrArCrUrCrCrArG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11446	MG3-6-마우스 GPR146-A2	mG*mG*mG*rCrCrCrUrGrUrGrGrArGrCrCrUrCrArGrCrArG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11447	MG3-6-마우스 GPR146-B2	mU*mG*mU*rGrCrUrCrArUrCrGrGrCrUrArCrGrUrGrGrUrG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11448	MG3-6-마우스 GPR146-C2	mA*mA*mU*rCrGrGrGrArArGrGrArArGrArCrArCrArCrCrC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU

[0745]

서열번호	명칭	서열
11449	MG3-6-마우스 GPR146-D2	mA*mC*mA*rCrCrCrCrUrGrGrArCrCrArGrGrArCrArCrCrA rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11450	MG3-6-마우스 GPR146-E2	mC*mC*mU*rGrGrArCrCrArGrGrArCrArCrCrArGrCrArGrG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11451	MG3-6-마우스 GPR146-F2	mA*mG*mC*rArGrGrCrUrGrGrArCrCrCrCrUrCrGrGrUrGrC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11452	MG3-6-마우스 GPR146-G2	mA*mC*mA*rCrArGrUrGrCrUrGrArCrGrUrCrArCrGrGrGrG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11453	MG3-6-마우스 GPR146-H2	mA*mG*mG*rGrGrCrArUrUrArUrCrUrGrGrGrCrArUrCrCrU rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11454	MG3-6-마우스 GPR146-A3	mU*mC*mU*rGrGrGrCrArUrCrCrUrArCrArGrGrUrUrGrCrU rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11455	MG3-6-마우스 GPR146-B3	mG*mC*mC*rArUrCrArCrCrUrGrCrUrGrUrArUrCrCrCrCrG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11456	MG3-6-마우스 GPR146-C3	mU*mC*mA*rGrCrCrGrCrCrGrGrArGrCrUrUrGrCrCrGrGrG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11457	MG3-6-마우스 GPR146-D3	mG*mU*mG*rGrUrGrUrCrArCrArGrArArCrUrGrCrUrUrGrA rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11458	MG3-6-마우스 GPR146-E3	mC*mU*mU*rGrArGrArArGrGrCrCrArGrGrArArCrUrUrGrG rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11459	MG3-6-마우스 GPR146-F3	mC*mG*mU*rGrArCrGrUrCrArGrCrArCrUrGrUrGrUrGrCrC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrAr GrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11460	MG3-6-마우스 GPR146-G3	mA*mG*mG*rCrUrCrArArGrUrArGrUrArArGrGrUrGrUrCrC rGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUr

[0746]

서열번호	명칭	서열
		ArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11461	MG3-6-마우스 GPR146-H3	mG*mC*mC*rArCrCrArGrCrArGrCrCrUrGrUrGrCrArCrCrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11462	MG3-6-마우스 GPR146-A4	mA*mG*mU*rGrCrCrArGrGrGrCrArUrArCrArArCrArCrArGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11463	MG3-6-마우스 GPR146-B4	mA*mG*mG*rGrCrArCrGrCrUrCrGrArUrGrUrArGrUrArGrUrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11464	MG3-6-마우스 GPR146-C4	mU*mG*mA*rArCrArGrGrArUrGrArGrCrArGrUrGrUrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11465	MG3-6-마우스 GPR146-D4	mA*mG*mU*rGrUrCrArCrArUrGrGrGrCrCrUrCrArCrUrGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11466	MG3-6-마우스 GPR146-B4	mG*mG*mG*rCrCrUrCrArCrUrGrCrUrGrArGrGrCrUrCrCrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11467	MG3-6-마우스 GPR146-F4	mC*mA*mC*rArGrGrGrCrCrCrArCrCrUrGrGrArGrUrGrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11468	MG3-6-마우스 GPR146-G4	mA*mU*mG*rGrUrCrArUrGrGrUrGrUrUrCrUrUrGrCrUrGrGrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11469	MG3-6-마우스 GPR146-H4	mG*mA*mG*rCrArUrUrArUrArGrCrCrUrArArGrCrUrCrArCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11470	MG3-6-마우스 GPR146-A5	mC*mU*mG*rCrCrCrCrCrArGrGrUrArGrArGrCrArGrCrGrArGrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11471	MG3-6-마우스 GPR146-B5	mG*mA*mG*rArGrGrArCrCrCrArCrArGrCrCrCrCrArGrGrCrGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUr

[0747]

서열번호	명칭	서열
		CrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11472	MG3-6-마우스 GPR146-C5	mU*mC*mA*rGrCrCrCrArCrGrCrUrGrUrGrCrUrGrUrUrGrArGrUrUrGrArGrArArUrCrGrArArArGrArUrUrCrUrUrArArUrArArGrGrCrArUrCrCrUrUrCrCrGrArUrGrCrUrGrArCrUrUrCrUrCrArCrCrGrUrCrCrGrUrUrUrUrCrCrArArUrArGrGrArGrCrGrGrGrCrGrGrUrArUrGrU*mU*mU*mU
11473	MG3-6-마우스 GPR146-A1	GTGGCCCACTCAACAGCACAGC
11474	MG3-6-마우스 GPR146-B1	CCGCTGTGCCGGAACCTGCGCC
11475	MG3-6-마우스 GPR146-C1	GCCGGAACCTGCGCCTGGGGCT
11476	MG3-6-마우스 GPR146-D1	TCTCGCTGCTCTACCTGGGGGC
11477	MG3-6-마우스 GPR146-E1	GGGGGCAGGGGTCCCTGTGAGC
11478	MG3-6-마우스 GPR146-F1	TACTTCGTGAACATGGCCGTGG
11479	MG3-6-마우스 GPR146-G1	GGCACTGGCACCTGCGTACCTG
11480	MG3-6-마우스 GPR146-H1	TGTTGGGCCCTGCCCACTCCAG
11481	MG3-6-마우스 GPR146-A2	GGGCCCTGTGGAGCCTCAGCAG
11482	MG3-6-마우스 GPR146-B2	TGTGCTCATCGGCTACGTGGTG
11483	MG3-6-마우스 GPR146-C2	AATCGGGAAGGAAGACACACCC
11484	MG3-6-마우스 GPR146-D2	ACACCCCTGGACCAGGACACCA
11485	MG3-6-마우스 GPR146-E2	CCTGGACCAGGACACCAGCAGG
11486	MG3-6-마우스 GPR146-F2	AGCAGGCTGGACCCCTCGGTGC
11487	MG3-6-마우스 GPR146-G2	ACACAGTGCTGACGTCACGGGG
11488	MG3-6-마우스 GPR146-H2	AGGGGCATTATCTGGGCATCCT
11489	MG3-6-마우스 GPR146-A3	TCTGGGCATCCTACAGGTTGCT
11490	MG3-6-마우스 GPR146-B3	GCCATCACCTGCTGTATCCCCG
11491	MG3-6-마우스 GPR146-C3	TCAGCCGCCGGAGCTTGCCGGG
11492	MG3-6-마우스 GPR146-D3	GTGGTGTCACAGAACTGCTTGA
11493	MG3-6-마우스 GPR146-E3	CTTGAGAAGGCCAGGAACTTGG
11494	MG3-6-마우스 GPR146-F3	CGTGACGTCAGCACTGTGTGCC

[0748]

서열번호	명칭	서열
11495	MG3-6-마우스 GPR146-G3	AGGCTCAAGTAGTAAGGTGTCC
11496	MG3-6-마우스 GPR146-H3	GCCACCAGCAGCCTGTGCACCG
11497	MG3-6-마우스 GPR146-A4	AGTGCCAGGGCATACAACACAG
11498	MG3-6-마우스 GPR146-B4	AGGGCACGCTCGATGTAGTAGT
11499	MG3-6-마우스 GPR146-C4	TGAACAGGATGAGCAGTGTCAC
11500	MG3-6-마우스 GPR146-D4	AGTGTCACATGGGCCTCACTGC
11501	MG3-6-마우스 GPR146-E4	GGGCCTCACTGCTGAGGCTCCA
11502	MG3-6-마우스 GPR146-F4	CACAGGGCCCACCTGGAGTGGG
11503	MG3-6-마우스 GPR146-G4	ATGGTCATGGTGTTCTTGCTGG
11504	MG3-6-마우스 GPR146-H4	GAGCATTATAGCCTAAGCTCAC
11505	MG3-6-마우스 GPR146-A5	CTGCCCCCAGGTAGAGCAGCGA
11506	MG3-6-마우스 GPR146-B5	GAGAGGACCCACAGCCCCAGGC
11507	MG3-6-마우스 GPR146-C5	TCAGCCCACGCTGTGCTGTTGA
r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합		

[0749]

[0750] **예 29 - 1차 마우스 간세포에서 마우스 GPR146에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0751] MG3-6 mRNA 및가이드(0.42 ug mRNA, 1:20 뉴클레아제:가이드 몰비)의 MessengerMax를 이용한 리포펙션을 상기 예 28에 기술된 가이드 RNA를 사용하여 1차 마우스 간세포(1E5 생존 세포/가이드)에서 수행하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다(**도 22**). 결과는 GPR146-H2 sgRNA가 마우스 간세포에서 편집하는 데 매우 효과적임을 나타냈다.

[0752] **예 30 - K562 세포에서의 TRAC 및 AAVS1에 대한 DNA 수준에서의 유전자 편집 결과**

[0753] 일치하는 가이드 RNA(500 ng mRNA/150 pmol 가이드)와 함께 MG14-241 및 MG99-1 mRNA의 핵감염을 Lonza 4D 전기천공기를 사용하여 200,000개의 인간 림프아구(K562 세포) 내로 수행하였다. 형질감염 후 3일차에 세포를 수확하고 게놈 DNA를 제조하였다. NGS-기반 DNA 시퀀싱에 사용하기에 적합한 PCR 프라이머를 생성하고, 최적화하고, 이를 사용해 각 가이드 RNA에 대한 개별 표적 서열을 증폭시켰다. Illumina MiSeq 기계를 이용해 앰플리콘을 시퀀싱하고, 독점적인 Python 스크립트로 분석하여 유전자 편집을 측정하였다. (**도 23**).

[0754] 표 22:

예 30 에 대해 표적화된 가이드 RNA 및 서열

서열 번호	명칭	서열
11508	MG14-241-AAVS1-E2	mU*mG*mG*rCrArCrArGrGrCrCrCrCrArGrArArGrGrArGrUrCrUrUrGrCrCrGrGrArArArCrGrGrCrUrArGrArCrArArGrGrGrArArUrCrGrCrUrUrUrUrArCrGrCrGrArUrUrArCrCrCrGrCrArArGrGrUrArArGrCrCrCrGrUrCrArGrCrArCrCrCrUrUrGrGrUrGrUrCrGrGrCrGrGrGrCrGrArUrCrCrU*mU*mU*mU
11509	MG14-241-AAVS1-F2	mC*mC*mA*rCrUrArGrGrGrArCrArGrGrArUrUrGrGrUrGrUrCrUrUrGrCrCrGrGrArArArCrGrGrCrUrArGrArCrArArGrGrGrArArUrCrGrCrUrUrUrUrArCrGrCrGrArUrUrArCrCrCrGrCrArArGrGrUrArArGrCrCrCrGrUrCrArGrCrArCrCrCrUrUrGrGrUrGrUrCrGrGrCrGrGrGrCrGrArUrCrCrU*mU*mU*mU
11510	MG14-241-AAVS1-B2	mA*mG*mG*rArGrArArCrGrGrGrGrUrGrUrCrCrArGrGrGrUrCrUrUrGrCrCrGrGrArArArCrGrGrCrUrArGrArCrArArGrGrGrArArUrCrGrCrUrUrUrUrArCrGrCrGrArUrUrArCrCrCrGrCrArArGrGrUrArArGrCrCrCrGrUrCrArGrCrArCrCrCrUrUrGrGrUrGrUrCrGrGrCrGrGrGrCrGrArUrCrCrU*mU*mU*mU
11511	MG14-241-AAVS1-E2	TGGCACAGGCCCCAGAAGGA
11512	MG14-241-AAVS1-F2	CCACTAGGGACAGGATTGGT
11513	MG14-241-AAVS1-B2	AGGAGAACGGGGTGTCCAGG
11514	MG99-1-TRAC-G1	mG*mA*mC*rArCrCrUrUrCrUrUrCrCrCrCrArGrCrCrCrArGrGrUrGrUrUrUrArGrUrCrUrCrUrGrArUrGrArArArUrCrArGrUrArArArArUrArArGrGrCrArUrUrArUrGrCrCrGrUrGrGrGrGrUrArUrGrGrUrGrGrUrArUrCrCrUrCrUrGrUrUrCrArArArUrArUrCrCrArCrCrGrUrUrUrCrUrArArArArArArArUrArUrCrGrCrGrCrGrCrCrGrCrCrGrGrCrGrUrGrCrU*mU*mU*mU
11515	MG99-1-TRAC-H6	mC*mC*mC*rGrGrCrCrArCrUrUrUrCrArGrGrArGrGrArGrGrArUrGrUrUrUrUrArGrUrCrUrCrUrGrArUrGrArArArUrCrArGrUrArArArArUrArArGrGrCrArUrUrArUrGrCrCrGrUrGrGrGrGrUrArUrGrGrUrGrGrUrArUrCrCrUrCrUrGrUrUrCrArArArUrArUrCrCrArCrCrGrUrUrUrCrUrArArArArArArArUrArUrCrGrCrGrCrGrCrCrGrCrCrGrGrCrGrUrGrCrU*mU*mU*mU
11516	MG99-1-TRAC-G1	GACACCTTCTTCCCCAGCCCAGGT
11517	MG99-1-TRAC-H6	CCCGGCCACTTTCAGGAGGAGGAT
r = 고유 리보오스 염기, m = 2'-O 메틸 변형된 염기, F = 2' 플루오로 변형된 염기, * = 포스포로티오에이트 결합		

[0755]

[0756] 예 31 - 신규한 II형 CRISPR 효과기는 다양한 PAM 요건을 갖는 활성 뉴클레아제이다

[0757] MG3, MG15, MG150, MG123, MG124, 및 MG125 계열의 신규 뉴클레아제를 계통유전학적 분석으로부터 식별하였다. MG150 뉴클레아제 계열은 식별된 다른 계열보다 MG3 계열과 더 밀접하게 관련되고(**도 24**), 새로운 분기 효과기 군은 MG15 뉴클레아제 계열을 확장시켰다(**도 25**). *시험관 내* 절단 활성 검정은 본원에 보고된 뉴클레아제가 일반적으로 PAM으로부터 위치 3 또는 4에서 절단에 대한 선호도를 갖는다는 것을 보여준다(**표 23**). 또한, II형 뉴클레아제에 대한 PAM 서열 결정은 NGS 데이터로부터의 SeqLogo 이미지에 의해 도시된 바와 같이, 다양한 PAM 요건을 나타낸다. (**도 26 내지 도 35**)

[0758] 표 23:

MG 계열 변이체의 절단 부위

후보	NGS 에서 절단 부위		후보	NGS 에서 절단 부위
MG1-2 (서열번호 6)	3		MG71-2	2 또는 3
MG1-4 (서열번호 1)	4		MG72-1	3
MG1-5 (서열번호 2)	4		MG73-1 (서열번호 11720)	3
MG1-6 (서열번호 3)	4		MG73-2 (서열번호 11721)	3
MG1-7 (서열번호 4)	4		MG74-1 (서열번호 11722)	3
MG14-1 (서열번호 678)	1 또는 3		MG86-1 (서열번호 11723)	3
MG14-241 (서열번호 914)	3		MG86-2 (서열번호 11724)	3
MG14-244 (서열번호 917)	3		MG87-1 (서열번호 11725)	3
MG14-246 (서열번호 919)	3		MG87-2 (서열번호 11726)	3
MG14-248 (서열번호 921)	3		MG87-3 (서열번호 11727)	3
MG14-5 (서열번호 681)	3		MG88-1 (서열번호 11728)	3
MG15-1 (서열번호 930)	1 또는 3		MG88-2 (서열번호 11729)	3
MG15-115 (서열번호 1042)	3		MG88-3 (서열번호 11730)	3
MG15-135 (서열번호 1062)	3		MG89-2 (서열번호 11731)	3
MG15-54 (서열번호 981)	3		MG89-3 (서열번호 11732)	3

[0759]

MG15-66 (서열번호 993)	3		MG94-1 (서열번호 11733)	3
MG15-94 (서열번호 1021)	3		MG94-2 (서열번호 8748)	3
MG16-1 (서열번호 11718)	1 또는 3		MG95-1 (서열번호 8782)	3
MG16-2 (서열번호 1093)	3		MG95-2 (서열번호 8783)	3
MG16-3 (서열번호 11734)	3		MG96-1 (서열번호 8786)	3
MG17-2 (서열번호 7700)	3		MG98-1 (서열번호 8819)	3
MG18-1 (서열번호 1354)	1 또는 3		MG98-2 (서열번호 8820)	3
MG2-4 (서열번호 11735)	1 또는 3		MG99-1 (서열번호 11748)	3
MG2-5 (서열번호 323)	3		MG100-1 (서열번호 8960)	3
MG2-55 (서열번호 371)	3		MG100-2 (서열번호 8961)	3
MG2-7 (서열번호 321)	3		MG111-1 (서열번호 9037)	3
MG21-1 (서열번호 1512)	1 또는 3		MG111-2 (서열번호 9038)	3
MG21-2 (서열번호 11736)	3		MG112-3 (서열번호 11749)	3
MG21-3 (서열번호 1513)	3		MG116-1 (서열번호 9150)	3

[0760]

MG21-97 (서열번호 1607)	3		MG123-1 (서열번호 11750)	3
MG22-1 (서열번호 1656)	1 또는 3		MG124-2 (서열번호 11751)	3
MG22-2 (서열번호 11737)	3		MG125-1 (서열번호 11752)	3
MG22-3 (서열번호 1657)	3		MG125-2 (서열번호 11753)	3
MG23-1 (서열번호 1756)	3		MG125-3 (서열번호 11754)	3
MG23-2 (서열번호 11738)	3		MG125-4 (서열번호 11755)	3
MG23-3 (서열번호 1757)	3		MG125-5 (서열번호 11756)	3
MG3-1_long (서열번호 424)	3		MG150-5 (서열번호 7363)	3
MG3-3 (서열번호 11739)	3		MG150-6 (서열번호 7364)	3
MG3-4 (서열번호 11740)	3		MG150-7 (서열번호 7365)	3
MG3-42 (서열번호 429)	3 또는 4		MG150-8 (서열번호 7366)	3
MG3-6 (서열번호 426)	3		MG150-9 (서열번호 7367)	3
MG3-7 (서열번호 422)	3		MG3-18 (서열번호 11757)	3
MG3-8 (서열번호 428)	3		MG3-89 (서열번호 11758)	3

[0761]

MG4-2 (서열번호 11741)	2 또는 3		MG3-90 (서열번호 11759)	3
MG4-5 (서열번호 432)	1 또는 3		MG3-91 (서열번호 11760)	3
MG40-1 (서열번호 5718)	3		MG3-92 (서열번호 11761)	3
MG40-2 (서열번호 5719)	3		MG3-93 (서열번호 11762)	3
MG40-3 (서열번호 5720)	3		MG3-95 (서열번호 11763)	3
MG40-4 (서열번호 5721)	3		MG3-96 (서열번호 11764)	3
MG40-5(서열번호 5722)	3		MG3-103 (서열번호 11765)	3
MG40-6 (서열번호 5723)	3		MG15-130 (서열번호 1057)	3
MG43-3 (서열번호 8359)	3		MG15-146 (서열번호 1073)	3
MG44-1 (서열번호 11742)	3		MG15-164 (서열번호 1091)	3
MG46-1 (서열번호 11743)	3		MG15-166 (서열번호 11766)	3
MG47-1 (서열번호 5751)	3		MG15-171 (서열번호 7605)	3
MG47-2 (서열번호 5752)	3		MG15-172 (서열번호 7606)	3
MG48-1 (서열번호 5769)	3		MG15-174 (서열번호 7608)	3

[0762]

MG48-3 (서열번호 5771)	3		MG15-184 (서열번호 7618)	3
MG49-1 (서열번호 5805)	3		MG15-187 (서열번호 7621)	3
MG49-2 (서열번호 5806)	3		MG15-191 (서열번호 11767)	2
MG50-1 (서열번호 5824)	3		MG15-193 (서열번호 11768)	3
MG51-1 (서열번호 5827)	3		MG15-195 (서열번호 11769)	3
MG52-1 (서열번호 5831)	2		MG15-217 (서열번호 11770)	3
MG6-3 (서열번호 11744)	1		MG15-218 (서열번호 11771)	4
MG6-5 (서열번호 11745)	3		MG15-219 (서열번호 11772)	4
MG7-1 (서열번호 11746)	3		MG15-177 (서열번호 7611)	3
MG71-1 (서열번호 11747)	3			

[0763]

[0764] **실시예**

[0765] 다음의 실시예는 본질적으로 예시이며 어떤 방식으로도 제한하려는 것이 아니다:

[0766] 1. 세포에서 B2M 유전자좌를 편집하는 방법으로서, 상기 방법은:

[0767] (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

[0768] (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 B2M 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

[0769] 여기서 상기 B2M 유전자좌의 영역은 서열번호 6387-6468 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

[0770] 2. 실시예 1에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

[0771] 3. 실시예 1에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

[0772] 4. 실시예 3에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

[0773] 5. 실시예 1에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6305-6386 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

[0774]

[0775] 6. 실시예 1에 있어서, 상기 B2M 유전자좌의 영역이 서열번호 6388, 6399, 6401, 6403, 6410, 6413, 6421, 6446, 및 6448 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0776] 7. 세포 내의 TRAC 유전자좌를 편집하는 방법으로서, 상기 방법은:

[0777] (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

[0778] (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는

상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRAC 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

[0779] 상기 TRAC 유전자좌의 영역은 서열번호 6509-6548 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85% 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

[0780] 8. 실시예 7에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

[0781] 9. 실시예 7에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

[0782] 10. 실시예 9에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

[0783] 11. 실시예 7에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6469-6508 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

[0784] 12. 실시예 7에 있어서, 상기 TRAC 유전자좌의 영역이 서열번호 6517, 6520, 및 6523 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0785] 13. 세포에서 HPRT 유전자좌를 편집하는 방법으로서, 상기 방법은:

[0786] (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

[0787] (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 HPRT 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

[0788] 여기서 상기 HPRT 유전자좌의 영역은 서열번호 6616-6682 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드에 대해 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

[0789] 14. 실시예 13에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

[0790] 15. 실시예 13에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

[0791] 16. 실시예 15에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

[0792] 17. 실시예 13에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6549-6615 중 어느 하나와 적어도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

[0793] 18. 실시예 13에 있어서, 상기 HPRT 유전자좌의 영역이 서열번호 6619, 6634, 6673, 6675, 및 6679 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0794] 19. 세포에서 TRBC1/2 유전자좌를 편집하는 방법으로서, 상기 방법은:

[0795] (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

[0796] (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 TRBC1/2 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

[0797] 여기서 상기 TRBC1/2 유전자좌의 영역은 서열번호 6722-6760 또는 6782-6802 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

[0798] 20. 실시예 19에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

[0799] 21. 실시예 19에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242 또는 서열번호 2244와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

[0800] 22. 실시예 21에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

[0801] 23. 실시예 19에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6683-6721 및 6761-6781 중 어느 하나와 적어

도 80% 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

[0802] 24. 실시예 19에 있어서, 상기 TRBC1/2 유전자좌의 영역이 서열번호 6734, 6753, 6790, 및 6800 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0803] 25. 세포에서 HAO1 유전자좌를 편집하는 방법으로서, 상기 방법은:

[0804] (a) RNA-가이드된 엔도뉴클레아제; 및

[0805] (b) 조작된 가이드 RNA를 상기 세포에 접촉시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 엔도뉴클레아제와 복합체를 형성하도록 구성되고, 상기 조작된 가이드 RNA는 상기 HAO1 유전자좌의 영역에 혼성화되도록 구성된 스페이서 서열을 포함하고,

[0806] 여기서 상기 HAO1 유전자좌의 영역이 서열번호 11802-11820 중 어느 하나의 적어도 18개의 연속 뉴클레오티드와 적어도 85%의 동일성을 갖는 표적화 서열을 포함하는, 방법.

[0807] 26. 실시예 25에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

[0808] 27. 실시예 25에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 2242와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 RuvCIII 도메인을 포함하는, 방법.

[0809] 28. 실시예 27에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 HNH 도메인을 추가로 포함하는, 방법.

[0810] 29. 실시예 25에 있어서, 상기 HAO1 유전자좌의 영역이 서열번호 11806, 11813, 11816, 및 11819 중 어느 하나의 비-축퇴 뉴클레오티드의 적어도 19개와 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0811] 30. 실시예 1에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

[0812] 31. 실시예 2에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제가 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

[0813] 32. 실시예 1 내지 4, 30 내지 31 중 어느 하나에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421과 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0814] 33. 실시예 1 내지 4, 30 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6305-6386 중 어느 하나와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 방법.

[0815] 34. 실시예 1 내지 4, 30 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6306, 6317, 6319, 6321, 6328, 6331, 6339, 6364, 및 6366 중 어느 하나와 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0816] 35. 실시예 7에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

[0817] 36. 실시예 8에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제가 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

[0818] 37. 실시예 7 내지 10, 35 내지 36 중 어느 하나에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421과 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0819] 38. 실시예 7 내지 10, 35 내지 37 중 어느 하나에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6477, 6480, 및 6483 중 어느 하나와 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0820] 39. 실시예 13에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

[0821] 40. 실시예 14에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제가 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

[0822] 41. 실시예 13 내지 16, 39 내지 40 중 어느 하나에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421 또는 서열번호 423과 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0823] 42. 실시예 13 내지 16, 39 내지 40 중 어느 하나에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6552, 6567, 6606, 6608, 및 6612 중 어느 하나와 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0824] 43. 실시예 19에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

[0825] 44. 실시예 20에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제가 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

[0826] 45. 실시예 19 내지 22, 43 내지 44 중 어느 하나에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421 또는 서열번호 423과 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0827] 46. 실시예 19 내지 22, 43 내지 45 중 어느 하나에 있어서, 상기 조작된 가이드 RNA가 서열번호 6695, 6714, 6769, 및 6779 중 어느 하나와 80%, 또는 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0828] 47. 실시예 25에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 Cas 엔도뉴클레아제인, 방법.

[0829] 48. 실시예 26에 있어서, 상기 클래스 2, II형 Cas 엔도뉴클레아제가 서열번호 421-431 중 어느 하나와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 엔도뉴클레아제를 포함하는, 방법.

[0830] 49. 실시예 25 내지 28, 47 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 상기 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제가 서열번호 421과 적어도 75%, 80%, 또는 90% 동일한 서열을 포함하는, 방법.

[0831] 50. 실시예 1 내지 24, 30 내지 46 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)인, 방법.

[0832] 51. 실시예 1 내지 24, 30 내지 46 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포는 T 세포 또는 이의 전구체 또는 조혈 줄기 세포(HSC)인, 방법.

[0833] 본 발명의 바람직한 실시예가 본원에 도시되고 기술되었지만, 이러한 실시예는 단지 예시로서 제공된다는 것은 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명은 본 명세서 내에 제공된 특정 실시예에 의해 한정되는 것으로 의도되지 않는다. 본 발명은 전술한 명세서를 참조하여 기술되었지만, 본원의 실시예의 설명 및 예시는 한정적인 의미로 해석되는 것을 의미하지는 않는다. 이제 본 발명을 벗어나지 않고도 많은 변이, 변화, 및 치환이 당업자에게 일어날 것이다. 또한, 본 발명의 모든 측면은 다양한 조건 및 변수에 따라 달라지는 본원에 제시된 특정 도시, 구성, 또는 상대 비율로 한정되지 않음을 이해할 것이다. 본원에 기술된 본 발명의 실시예에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는 데 사용될 수 있음을 이해해야 한다. 따라서, 본 발명은 임의의 이러한 대안, 변형, 변이, 또는 균등물도 포괄하는 것으로 고려된다. 다음의 청구범위는 본 발명의 범위를 정의하고, 이들 청구범위의 범위에 속하는 방법 및 구조와 이들의 등가물이 이에 의해 포괄되는 것으로 의도된다.

[0834] **표 24:**

서열 목록에 포함되지 않은, 본원에서 참고되는 추가 단백질 및 핵산 서열의 목록

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
MG123 활성 효과기 PAM	11518	MG123-1 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnCAAa
MG124 활성 효과기 PAM	11519	MG124-2 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnATAA
MG125 활성 효과기 PAM	11520	MG125-1 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnATAA
MG125 활성 효과기 PAM	11521	MG125-2 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnGTACAA
MG125 활성 효과기 PAM	11522	MG125-3 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnRCAC
MG125 활성 효과기 PAM	11523	MG125-4 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnGnnA
MG91 활성 효과기 PAM	11524	MG125-5 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnCnnn
MG150 활성 효과기 PAM	11525	MG150-5 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnMCMnn
MG150 활성 효과기 PAM	11526	MG150-6 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRMYTnn
MG150 활성 효과기 PAM	11527	MG150-7 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnwMCrnn
MG150 활성 효과기 PAM	11528	MG150-8 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnwMCCnn
MG150 활성 효과기 PAM	11529	MG150-9 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnMCMnn
MG3 활성 효과기 PAM	11530	MG3-18 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRGGTY
MG3 활성 효과기 PAM	11531	MG3-89 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRwwYYn
MG3 활성 효과기 PAM	11532	MG3-90 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRmwYnn
MG3 활성 효과기 PAM	11533	MG3-91 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRwYCCn

[0835]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
MG3 활성 효과기 PAM	11534	MG3-92 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRGnCAn
MG3 활성 효과기 PAM	11535	MG3-93 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnCACnn
MG3 활성 효과기 PAM	11536	MG3-95 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnMYAY
MG3 활성 효과기 PAM	11537	MG3-96 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nRwYAYn
MG3 활성 효과기 PAM	11538	MG3-103 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRGCCCn
MG15 활성 효과기 PAM	11539	MG15-130 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnCwAC
MG15 활성 효과기 PAM	11540	MG15-146 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnGTRY
MG15 활성 효과기 PAM	11541	MG15-164 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRnRYAW
MG15 활성 효과기 PAM	11542	MG15-166 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnGYTA
MG15 활성 효과기 PAM	11543	MG15-171 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnCWAW
MG15 활성 효과기 PAM	11544	MG15-172 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnCCRCAT
MG15 활성 효과기 PAM	11545	MG15-174 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRGAYA
MG15 활성 효과기 PAM	11546	MG15-184 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRnRYAA
MG15 활성 효과기 PAM	11547	MG15-187 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnCAAn
MG15 활성 효과기 PAM	11548	MG15-191 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	GnnnnCMA
MG15 활성 효과기 PAM	11549	MG15-193 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRnRYAY
MG15 활성 효과기 PAM	11550	MG15-195 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnnGAAA

[0836]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
MG15 활성 효과기 PAM	11551	MG15-217 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnRnRTGA
MG15 활성 효과기 PAM	11552	MG15-218 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnCnAT
MG15 활성 효과기 PAM	11553	MG15-219 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnRTATW
MG15 활성 효과기 PAM	11554	MG15-177 3' PAM	뉴클레오티드	인공 서열	nnnSRYTA
MG71 효과기	11711	MG71-2 효과기	단백질	알려지지 않음	MFDNLDASKVNDFNAVFSEVENYVRDEMGIEDWSCQNIDELAKVLCD VNLGRTTKQKAMQSLLPAQTKQQKAIIQLFSGGKAKLAELFVDEELD ECEKKSVSFQDDDLNEFEPVLTAALGERYEGLLRFKAIYDWSLLAKIL HLDTSKKDEDEQHLLSECKMQVYEDHKRDLAVLKSMLKGKPLYNKIF RQDGDISYEKYAKGIKGRNQIDFCKDLKKQLEGIAEYKKIMQEITSIDD AKTEEERLLFRITNGFAFPKQTTKDNGIIPIQVHLAELKCILDNAEGYLP FLGETDNNGLSVREKIEQIVKFRIPYYVGPLAGTRMSREQGRCWVVRK NEKIYPWNFTEIVNLEESAEKFITNMTAKCTYLVGEDVLPKESLLYSEF MVRNAINNITVDGERLPVDVLEKIFKQLFLAKTSKVTKKTLERFFRQE NISFQNIGGIDDKINASMKSYNDFRRIFGEDYIQLHRDEIENIIRWITLFC DEKKCWSLK
MG73 효과기	11712	MG73-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MTKILGLDLGIASVGYAVVNLDEQKFDGGEILTAGVRIFEAAENPKDG ASLSAPRREARALRRILRRKTIRLQQIRNLFIKYQILTTEELNHLYASPL PSVWEIRTLSLYEKQPLQHIARALLHIAKRRGFRSMRKSAEEKNYETG QLLQGISLLQNLLKQSGRQTIGEFLYHLPQSEPKRNKAGSYNHSIARSM LEEEVRLILEKQRTYGNTALSSEFEQEFRAIAFDQQPLKPSSPGKCTFLP DEDRAPKQAYTAELFAALSKINHIRIVSQGTSRALSADERQIALDLCLE KENNNFAQLRKLLELQENEFFNISYIIPRAKQNTDYQPEKKTAVYKMT GYHALRKALKDHKPLWTTYMDNPNGGLDQIAVVLATFKSDKEIINAL EKLQFPSELIEAVKSLSFSGFMHLSLKAMRNINPFLLEGHTYDKACELA GYNFQAAKRNAGLTKLPPLTEEENFSITSPVVKRSIAQTRKVVNALNRK YGPFDAVHIELAREMGRNWAQRKELTQQQKENQEERDLIKAQGIEGL FPKNSLDIKKIRLWKEQGGYCLYSNQYIKPEQILEEGYCQVDHIIPYSRS FDNTLSNQVLCLTKENQDKRNDIPFDYFQRIQRDWDSFVTLVNASPTM RPNKKQKLLRTELSEEDLAGFKDRNLNDTRFISSFVRKYLLQNLQLTN KYKQGVFCRNGKITADLRNMWGLSKIREQDDKHHALDAIVLACCSNA MMQQISTQYTHNKETAALKIKPLFPWPWKEFRTDVENALLSIFVSRPP RKKITGAFHKETVYSAKHLARGFKTLKTDINTLTAEKLAKQRDLEIKY YGVERNKKLYDAIEQALLARTDAKQPLKVYLGPAQTPVKKIKLIMEG NKGVPVLKGTAVAENGAMPRVDVFYKNGTYFLVPVYTIDFTKEKLPLI

[0837]

[0838]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					SIPDNQPMDVRDFRFSLYKDDYVQIKNKTGETFEGYFKQYNAQTGQIY LETHDRSDSYTVSGKPASEKKFSKSTFVDFTKYQIDILGNQHRVEKEKY TGITRKNKGFGG
MG89 효과기	11713	MG89-2 효과기	단백질	알려지지 않음	MSYVLGLDLGIASVGWSIVEPGNRIIDLGVRVFKKAETDKEGDPLNLIR RESRLSRRRLYRRAHRLSRLLNFLISSGLIHSKDEVLKNVYNENPWALR TLGLNSVLTNNQLARVIYHICKHRGFYWASSADDGQADNGKIKKSLSS NQLVMKEKGYKTVGQMIFTEYPNCQRNKSGEYSKSLPRTDLDKELRA IFKAQQSFSNPIVTKDFINAIVGCGDRKTGFLWEQRPALQGEDLLKMV GHCRFEKDELRAPAANFYSEQLVWLTKINNLRVYDEDSQERPLTREER DLILNMPLEMKSDIKYSSLTSAFEKANLWKSGQFKYKSVDYEQKTQKK KNTAKSVDITKSSKKNPEDKVFYKSSHLHEIRKALGSSLSEEWEKIRTE VLSGKYDRYNRIAYVLTVYKEDSDVIEQLSPYESRTLIEALLPVRFSGFV ALSEKSLKKIIPHMVLGKRYDEACSEANYKHYKQNQAEFKKLKYLPPL FSGREPNGTLIFNEEIGDIPRNPVVLRVINQTRKVVNAIVKKYGSPKSVH IELARDLAKSRAERNEIEKRNEEAASRHIKERDEFEKLFGSKCLNGTNL LKYRLYKEQDCKSMYSSKEIDHKRLFEKGYVQIDHILPYSRSYDDSQSN KVLVLTNENQDKGNRIPFEYFEAKQHGFSWYEFEQWVKSCKNLNQKK KRNLLRCSLSKDAKKDFLERNLNDTRYACRFVKNYIDSFLCLSENSDNS GCVVVAGQLTAYLRNCWGLNKVREENDRHHALDATVIACCTRKIVQ KVGAWSKSREMNSYNSSYVDPDSPVDEDEKLLQKLYVNTRKPDFPKP WECFRSEVESRVFESALEKLKEKLKLQCSYTESELKNVRTLFVSRACE KIGKGALHGDTVYRQTSEMRKENVAVKKVSLKKLKYARIEAIVDADT RNKNLCDALKKRYEEYARKIGKKIEDFVDKDIAKIFADDNPLHMPNSD GQEDPCNPIVKSVRVKEAFSGVPIRNGVAGNSTIIRVDLFKKDGKYYCI PVYAWNKTLPNRAYVSGKKETDWALVDDSFEWCFSIRQNELLKIKLK GETIFGYYNGFDRDRGSFNILLHDRQDGKDHKQGLIRKGIKTAISITKY DVDVLGNYYLSKPEKRLELA
MG73-1 sgRNA	11714	MG73-1 sgRNA	뉴클레오티드 (RNA)	알려지지 않음	(N24)GUUAUAGUGGGAAAUCACUAUAAUAAGUGAAAUCGCAAGGCU CUGUUCUUGAACAUCCUUUAUUAUAAAACUCCUGCCAAUCGGUUG GGAGUUUU
MG89-2 sgRNA	11715	MG89-2 sgRNA	뉴클레오티드 (RNA)	알려지지 않음	(N24)GUUGUAGCUUCCUUGAAGAAAUUCAACGUUGUUACAAUAAGG UUUUCGAAAGAUUACCGAACCCGCCCUCACUUAGGUGAGGGCUUUU U
MG99 효과기	11716	MG99-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MRDLSYRIGLDIGIGSIGWAVVSSETEDHPARIENFGTRIFDSGEDPKTR ESLCQARRADRGVRRLERRRAFRKEMLKNHFQNIGLLNNTFNDDYES CRDDDVYLLKVKGLDGKLEAAELFKCLAHTCNHRGYKDFYEPEDDDE NEESGVNEKAANLFEKEFAASGKRTVSEYLVEKYFNNGFVKFRNRSGS DAPYMLIRRSLLKDEAEKIIKKQSEYYPCLGGINAERTVSIIFSQRDFED

[0839]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					GPGDPNDPHRRYHGFLETLGRCPYYKDEKRGFRGTVISDVFAVTNTLS QYVFFEKETGECRLDPKIANELVSYLLTNAGLTMTEVKKILKSHGYEL KKSEKSDDKAISKAVKFLSIAKKCVEEAGKSWEALISEDQFDAANLSTL HRIGELISKFQTPSRRVQEMKKAGIDGDLIKAFSGKKISGTSSVSYKYM TDSINAFLSGDIYGNFQANFIKENAAVKEEERSYKLEPRHIDDPEVRDN RVVFKAINETRKVVNAIIDIYGSPEDIVIEVASELGKSVEARIEETKRQR ANEKENDRIKSEIAKLLSIDVQSVKTTMIERYKLYNIQEGKCAYSLEPL GDLKDVVENVNKVYEIDHIVPFSLILDNTLNNKALVFTRENQTKGQRT PLMYLSEEKAKEFLAFSNHLFSKKTGGISKTKLEYLKLETIYGEAAAEK LNAWKSRNINDTRYITKYIAGLFDKQLIFAGDKKQHVFTVKGSVTQKF RREWFRGTEWGKDEKDRTTYLNHALDALVAANLTKAYIEIGSDAIKLS QIYRAHRYQITEEYESYLDKCVKKMSKYYGFSEGYTKKLLSKPERIPSF VPRLKEEVAVRFNDSDSEAFDKGVSKLYSAEAPFIDPPHIPITSHKQNKK FKGCIADSNPIRVEEIDGEAHKIRRIDIKTLSAKKLKDLYTGDVSLREEL AAMLDGKPESYTVGDSLKESGKEFFLSKSGAVIRKVSVDDGIVSNYYR KEIKDGQYSTLGMLKYYCIEVYKDAKGKTRIYGIRFVDVVKKNKKLY QKAESYPEDYASHVMYLFTGDFVRITDKKGKLKFEGFYQAVKNINSSI LYFSPVNLANTVIKGISLTDNIEKYYVDILGRIGGKIRCSEPLQSTAEKK SL
MG14 sgRNA	11717	MG14-241 sgRNA	뉴클레오티드 (RNA)	알려지지 않음	N(20)GUCUUGCCGGAAACGGCUAGACAAGGGAAUCGCUUUUACGCG AUUACCCGCAAGGUAAGCCCGUCAGCACCCUUGGUGUCGGCGGGC GAUCCUUUU
MG16 효과기	11718	MG16-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MIKNILGLDLGVGSIGWALIQTEDDQPKQIIGMGSRIVPLTKDDSDQFT KGQAISKNAERTARRTTRKGYDRYQLRRALLTQVLRQNGMLPECMD ENMIDLWKLRSDAATEGKQLTLQQIGRVLYHINQKRGYKHAKSDDNG DSKQTKYVEAVNLRYKEIQEKNVTVGQHFYAELLNSKVESGNGPYYTF RIKDKVFPRAAYIAEFDQIMGVQKEYYPNVLTDELIETLRNRIIFYQRPL KSCKHLVGLCEFEMRPYKKDGKIVYGGPKCAPRTSPLAQLCAMWET VNNITLTNRNNERLEISNEQRRQLVQFLCTHETLKLTDLYKILGITKKD GWYGGKAIGKGIKGNVTLNQLRKALDGKYSQWLEMPIERIDVVDRNT AEAFWAVSPKVEETPLFQLWHAVYSLQNVEELTKTLQNRFSITDPQVI DALCKIDFVKPGYANKSHKFIRRLLPYLMEGMMYSEACACIQINHSNS MTKAEREARPLAERIELLQKNALRQPVIEKILNQMINLVNRLQQEYGPI DEARVELARELKQSREERKDAFDRNNKNEKRNKEISALISEQGIRPSRS RIQKYKMWEESEHRCMYCGKVVNLSEFLNGADVEIEHIIPRSILFDDSF SNKVCACRDCNREKDNMTAMDYMASKPEGEFEAYKQRVDEAFNAHR ISKTKRDHLLWRRADIPQDFIDRQLRLSQYIATKAVEILQQGIRQVWTS GGGVTDFLRHQWGYDEILHTLNLPRYRQVEDLTEMVHYEHAGQEHD EERIKNWSKRIDHRHHAIDALTVALTRQSYIQRLNTLEASHEHMEKLV

[0840]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					KEANTPYKEKKSLLEKWVALQPHFSVEEVTTQVDGILVSFRAGKRVTT PARRAVYHGGKRTIVQRGIQVPRGALTEDTIYGKLGDKFVVKYALDH PSMKPENIVDPTIRLLVENRITALGKKDAFKTPLYSAEGMEIKSVRCYT SLSEKGVVPIKYNEKGNAIGFAKKGNNHHVAIYKDQSGQYQEMVVSF WDAVERKLYGVPTVITNPKTVWDELLEKELPQDFLEKLPKDNWQYVL SMQENEMFVLGMEEDEFNDAIDTQDYNTLNKHLYRVQKLSHADYTFR FHTETKVDDKYDGVENGRNTSMSLKALVRIRSFNGLFTQFPHKVKIDI MGRITKA
MG16-1 sgRNA	11719	MG16-1 sgRNA	뉴클레오티드 (RNA)	알려지지 않음	N(22)GUUGUGUAUGGAAACAUACACAAUAAGGAUUAUUCCGUUGUG AAAACAUUCAGGGUGGGACGCAAGUCUCGCCCUUUU
MG73 효과기	11720	MG73-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MTKILGLDLGIASVGYAVVNLDEQKFDGGEILTAGVRIFEAAENPKDG ASLSAPRREARALRRILRRKTIRLQQIRNLFIKYQILTTEELNHLYASPL PSVWEIRTLSLYEKQPLQHIARALLHIAKRRGFRSMRKSAEEKNYETG QLLQGISLLQNLLKQSGRQTIGEFLYHLPQSEPKRNKAGSYNHSIARSM LEEEVRLILEKQRTYGNTALSSEFEQEFRAIAFDQQPLKPSSPGKCTFLP DEDRAPKQAYTAELFAALSKINHIRIVSQGTSRALSADERQIALDLCLE KENNNFAQLRKLLELQENEFFNISYIIPRAKQNTDYQPEKKTAVYKMT GYHALRKALKDHKPLWTTYMDNPNGGLDQIAVVLATFKSDKEIINAL EKLQFPSELIEAVKSLSFSGFMHLSLKAMRNINPFLLEGHTYDKACELA GYNFQAAKRNAGLTKLPPLTEEENFSITSPVVKRSIAQTRKVVNALNRK YGPFDAVHIELAREMGRNWAQRKELTQQQKENQEERDLIKAQGIEGL FPKNSLDIKKIRLWKEQGGYCIYSNQYIKPEQILEEGYCQVDHIIPYSRS FDNTLSNQVLCLTKENQDKRNDIPFDYFQRIQRDWDSFVTLVNASPTM RPNKKQKLLRTELSEEDLAGFKDRNLNDTRFISSFVRKYLLQNLQLTN KYKQGVFCRNGKITADLRNMWGLSKIREQDDKHHALDAIVLACCSNA MMQQISTQYTHNKETAALKIKPLFPWPWKEFRTDVENALLSIFVSRPP RKKITGAFHKETYYSAKHLARGFKTLKTDINTLTAEKLAKQRDLEIKY YGVERNKKLYDAIEQALLARTDAKQPLKVYLGPAQTPVKKIKLIMEG NKGVPVLKGTAVAENGAMPRVDVFYKNGTYFLVPVYTIDFTKEKLPLI SIPDNQPMDVRDFRFSLYKDDYVQIKNKTGETFEGYFKQYNAQTGQIY LETHDRSDSYTVSGKPASEKKFSKSTFVDFTKYQIDILGNQHRVEKEKY TGITRKNKGFGG
MG73 효과기	11721	MG73-2 효과기	단백질	알려지지 않음	MNKILGIDMGIASLGYAVVNIDDENFVNGDILASGVRIFDVAESPDGSSL AAPRRAARSVRRILRRKVMRIKAIKQLFLDFNLLSPQELDLLSKQDFKT LYQATPEGQPIPSVWEIRARALDNPCSLVDICRALLHIAKRRGFRSMRK SEKLTGEAGKLLKGVEEMQKKLQESNFRTIGELLFHLPATEPKRNKD GSYSHSVARSLLEEEVHLILQVQRAKGANALSQEFETQFCKIAFLQNPL QPSDPGFCTLEPTEPRAPKNAYTAELFAALCKINHIYLEEDGQSHALSA

[0841]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					AQRALALEKCFSTQKTNYKQLRELFNLPNDIKFNISYTAPAKKKSKKK EEAQSPEQAVQAPQEYDAEKNTTLYNMAGFHALKKALKSSPLWAEYQ TNPNGILDKIAEVLSRYKSDGEIRQHLTALGLPAEAVEKLQNVNFSGFM NLSLVAMNKIIPFLKEGFRYDVACKKAGYNFQAPQQNKGLSKLPPLTE EDNHTITSPVAKRSLAQARKVINALNKKYGPFDAVHIEVAREIGKSFEK RKEIEAEQKAHAEERARLKEVGIDGIIPQTETDLKKLRLWKEQDGRC MYSLQYIEPRKILEEGYCQVDHIIPYSLSFDNSLNNQVLCLTSENQHKK NQIPYEYFHSGKAQITWEDFEGYVNSLQNIRMAKKHRLLKQELTEDDL QGFKERNLSDTKLISRFMKNYLLANLRLTGKYKQGVFCVNGKHTSTL RGFWRLQKIREDGDKHHALDAIVIACCTNRLMQYISTKYRQNRELEL QRKEVAVPWPFPHFKHAVENSLLSIFVSRPPRKKVTGALHKNTFFSAK HIKKGIKTLRTDIQKLTLDSLKKQRELEVKYFGVERNKPLYDLIETALN NRPNDKTPIQVQMPTKNGGFVPVRHIKLISESTSGIPVLGGTALAENDS MPRVDVFLEDGQYYVVPVYTMDFAKGVLPLVAQPSGRLMKKENFVFS LYKDDYVNLVNKQGETWEGYFKQLNAQTGQIYLESHDRSAQYTVSGK PSNQKKIASSTLKLIEKYQIDIFGGKHLVKKEKYIGIIRKNKGFGG
MG74 효과기	11722	MG74-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MQVHDDVILGLDIGVGSLGWALLEEDLQTGEQRLLQRQTPQGETTYA LGVRLFHVPENAKTKELLNVKRRTARMQRRTTARRAQRMRRVRALL DSLGVPGVRDADAFHLGKGRGAQCDPWQLRREGLERRLEAREWAVV LLHIAKHRGFRSNSKTDRSGSDKEMGQVLQAVSNLQQEVEASGLTVG ALLASRERRRNRADHTGAPRYDLCMLRSLQENEVDILFTRQRELGNPL AGEEVRCRYAELAFAQRPLAPVSHMVGPCAFLEGERRAPRFAPTAELF RYVQALCNMRLRQETGEETPLSEEQRQAACAVFGSVQSVTYKKLRQV LRLPAGCRFAGLSYGVTEKGNVQDPEKADVVMRTGKCCQGTACLRGI LGDAYEALHEQRLDEADAARLAATGALSAPAAALLARGMAGLRLTDA VARIVSELNDLDQIRAVLALLPLAAPRIAALSQAAGEGKLGIFQGTARL SLRAMEAILPHMLACGEYAAACELAGFDPRAAQKTDVTDIRNPVVLRV FREVRRQFSAICREFGFLPGRVHVELLREVGKSGEERNRISRGLERRTK EKEAARKAVAQLLGKSPETVSAGEVQRYELWRQQDGKCAYYMLWR HAGGERAYGDAMPQGSIPPDWLADGVNAVQVDHILPRSRTFDNSFHN LCLCCHAANQAKGGRTPWEWLGAAQPQAWHDFEQWVQSLPLKGLK KRNYLLRDLNAEVQGRFHARNLTDSGYVARLTLRWLEEEYARHDVP MQDADGRTRRRFFARPGQVTDFLRRHWGVQALKKIDGQRSGDRHHA LDALLVAACSEGMLQRMVRAFQREENGPERLHIPCPWQDFSATVGRA LGSVFVSRVERGRTKGPLHEETLRAIREERQPDGETRRVLYERKAVAR LTAADLDKIKDAARCPDVVAALRRWLDAGKPGDALPRSAHGDIIRHVR VCAGEFSSGVVLQRGSGQAQASNGGMVRTDIYSRDGKFYMVPVYAKD VADKRLPLRACVAAKAEKDWREMTADYRFLFSLTPDCYVLTENRKGE

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					VKEGYFAGANRNTSAISLSLAHDKQNVIQGIGITTLKRFEKYRVDRFGR LSLVRREADPRGRS
MG86 효과기	11723	MG86-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MKKILSFDLGITSIGYSVLTEDEAQKYSLLDYGVSMFDKPTDKDGNSK KLLHAQALSTKKLYKLRKERKKNLALLFEKYALAKASKLLEQEKKNL YMYKWQLRAKKVFEERLSIGEIFTILYHIAKHRGYKSLDSGDLLEELC VELGIKIDVKKEKKDDEKGKIKQALSTIESLRKEYPKKTVAQIIYEVEL QKERPVFRNHDNYNYMIRREHINDEIATIIRKQKEFGNFENIDSEVFIVD IIAAIDDQKESTNDMSLFGKCEYYPKEHVAHQYSLLSDIFKMYQAVANI TFNKEKIKITKEQIRLLTEDFLNKIKKGKSVKELKYKDVRKILKLDESV KIFNKEDSYQRAGKKVEHTITKFHFVDNLSKIDKSFIEDIFNADESYVL MREIFDVIHKKEKSPKRIYEQLKSKVSSEAVIIDLIRYKKGSSLNISSYAMA KFLPYFEEGMTLDAIKEKLDLGRKEDYSVYKKGIKYLHISTYEKDDDL EINNHPVKYVVSAVLRVVKHLHAKHGTFDEIKVESTRELSLNDKVKKE IDKANKAREKEIEKIISNDEYQKIAKEYGKNIHKYARKILMWEAQERFD VYSGKSIGIDDIFSNRVDVDHIVPQSLGGLYVQHNLVLVHRDENLQKSN QLPMNYITDKEAYINRVEHLFSEHKINWKKRKNLLASNLDEIYKDTFES KDLRATSYIEALTANILKRYYPFIDEKKSVDGSAVRHIQGRATANIRKV LGVKTKSRESNIHHGVDALLIGVTNPSWLQKLSNIFRENFGKIDDEARK NIKKALPYIDGVEVKDIVKEIEQKYNSYGEDSIFYKDIWGKAKTVNFW VSKKPMISKVHKDTIYADKGNGIFTVRESIIAKFINLKITPTTFPEDFMK KFHKEILEKMYLYKTNSNDVICKIVQQRAEEIKELLWSFEFLDVKNKE EMQEAKANLESLVHRELFDNNGNVVRKVKFYQTNLTGFKVRGGLAT KEKTFIGFRAFKKDKKLEYKRIDVSNFEKIKKSNDGSFKVYKNDIVFFV FDEEKYKGGKIVSFLEDKKMAAFSNPKYPANIQAQPESFLTIFKGKANS HKQVSVGKAKGIIKLKVDILGNIESYQVLGNAKSKLLDEIKSIVSH
MG86 효과기	11724	MG86-2 효과기	단백질	알려지지 않음	MKKILSLDLGITSIGYSVIEEFGNDRYSLIDYGVSMFDKATDKDGNSKK LLHSASTSTSKLYDLRKKRKKDLAQLFHNFGLGDKNSLLSQEKQNIYK NKWYLRCHKAFKEKLNINELFTIFYTLAKHRGYKSLDSSDLLEELCEK LNIPLETKTKKDDERGKIKKALKTIEELKQNSTKTVAQIIYEIELKKENP TFRNHDNYNYMIRREYIDQEIEKIIKTQKDFGLFDDKFDIDNFIEKLKDI ITYQNPSTNDMRLFGNCEYYEDEKAAHQYSVISDIFKMYESVSNITFNT KPSIKITKEQINKIADDFFTKIKKGKNIADIKYKDIRKILALSDDTKIFNK DDSYISKGKKVEHTIIKFHFVNNLSKFDNSFIVENLNSLENLKEIFEVLQ FEKDPTAIYEKLKDKIEDKQTIINLIKHKSGNSLNISAKAMVEFIPYFKD GLTTDKIKEKLELNRCEDYSKFYKGIKYLNIRQFEQDDNLDINNHPVK YVVSATLRVIKYLHIVCGTFDEIRVESTRELSQNEETKKAIEKANKELE KQINDIVQNKEYQNIAQHYGKNLQKYARKILLYEAQNRRDIYTGEGIE FEDIFTKKVDIDHIVPQSVGGLSVKHNLVLVFRDTNIQKSNQLPMNFVK DKQDFINRVEHLFSEHKINWKKRKNLLATNLDEIYKDTFESKSLRATSY

[0842]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					IEALTAQILKRYYPFKDKEKQENGKAVSYIQGRATSNIRKILKVKTKTR DTNIHHAIDAILIGLTNQSWLQKLSNTFRENFGKIDEEARANIKKDMPIF EIIIDDEVKYLEPKELVELIEKNYNYDGENSIFYKDIWGKIKSVNFWVSK KPMVSKIHKDTIYSKKDDGIYTVRENIINHFINLKITPKTSSKKFEEEFN KKILNKMYLFKTNPKDAVCKAIIKRANDIKTLLDSFIDIDTKDKEAMNN AKTKLDELIHKDIPDNNGKPIRKIKFYQTNLTGFDVRGGLATKEKTFIG FKAQIINGKLNYTRIDVANIDKIKKENDNSFKVYKNDLVFFIYTDGTNK GGKIVSFLEDKRIAAFSNPRFPSSIGFQPHFFVTIFNGKANSHKQHSLNK AIGIIKLNLDILGNIKSYQKIGSCESELLEFIKKVIKD
MG87 효과기	11725	MG87-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MEKYIIGLDLGINNVGWSVVDAQTNKIKYLGVKQFEASDSAKDRRTQR NTRRRLKRRETRKTDILKILSNINFPNNLTIDTMLIETRCKGINEQISKQ DITNILCYMATHRGYIPFGDEEVSFVDLDGKYPCEYYYEMFKSSTNNK YRALRNTVKNEENINEVKKMLETQRKYYPEITNETIENIVTTLQRKRK FWEGPGSINALTDYGRFKTPEDVVEYLDKKKENPEYEKYIFEDLIGKCS VIPNEKCVSQINFYAEKFNLLNDFINISFKSIEELNNKDDFYETQVKTYK LRESGLNKVFDYCMSKDTLTIKGLFKDLFATTIDNISGYRQDGHDPNK PEMSTMNTFRSIRKTFKECNANMDIFKPENTDLYNEIINYMMLVPGQV ELINMLSTIMPLSENDKEALKKVFKSKKTNLKYHSLCEKILIRACNDML SLQKNYMQVYKLKDYGKESRKEFVKRYEESNKGEKLMNPTFIDDIISS PQVKKTLRQSVKVINEIIKNEKSLPDVIVVESTKDTLNSEKMRKVYIDIN KKQKALHDKAIKTLSSIGYSEKDISKKKIEKLMLYEEFDGLCPYCNNQI TLKYLINGSDEIEHILPRSNSFDDSFDNRTVSCANCNKNKNNQTPLEFLK GNEKESFIERIKSNKNISEFKKENFLFAGDISKYRTRFFNRNLRDTAYAT KEMINQINIFNLYLESKNKDERIKTLSTPGQITHSIRKRYDLEKDRDTDI PYHHAIDASILALLPTTKIGSKVVMFQNDNKFFLNENNKDKMTEIGLEL KYYDTSEGKIEYDDYIADFKNINDTSNIFMYSPEVKKEPNKGLFNANMY KVIKIDDKYYKIDQINDIYNLSDSDKKLLPKLFDDAKNETLLCKLQHKE FYEKLKNIYIKYSDSKNSPFEDYQREINNLSKEDKFDYLKHGLKMSENA PSVKRLRYYTPISEPYLIDKKSINKKDGTYLAFDSLAQAGIEVYYNETK NCFAFVPIPSVCYNLKTRKVNRKHKLYKRYKELNLKDYKVKYIVTLYN GNTIEVLKKDNTIIKGVVSSYHKTNDKIVLKNGSYFTKSDLEFSIIDYNPI GKSQKRLTKRIK
MG87 효과기	11726	MG87-2 효과기	단백질	알려지지 않음	MKKYTIGLDLGINNVGWAKYDLETKKVIDKGVVRFKESSTAQDRRIIR GSRRLRKRKQHRVERLAIQLSNINFCTSRSYEPELLNKRIKGLNESLSE QEITNIIYWFAIHRGYIPFDEEKPEREVHKFAEDEYPCQYIFDYYKEYG VYRGQCDLISLKDNLKELKQILLTQQKYHSKLTDEVIDNILYIIQSKREF WEGPGASKENQLSPYGRYRTLEDLEKYKADPTYHQYLYEMLIGKCEL SIDKDGFMDQVAPKCNFYAEEFNFYNDFINMSVKEPSQIDEEYRNKITL KGKFTEDTIEEIKKEIISTKKVSLDKLVKKILGLELKDIQGYRIDKKYKP

[0843]

[0844]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					EISQFEFYKYLLKSFKDEKLNPSWLENDDKTIYNQIVYILTVAPSTYAIE DMLKDRVKEVEFKKEEIDVLIDIKKKKNPDLKYHSLSERILKKALDDIK RHNCEYNFMQIMKRLEYEKEMKEYFQNNYSTKTQSPYTIEDQYIDHLI ANPQVKKTLRKAIKIINAIIKEEKNYPETIVIESATSLNSKERKKQIEEEQ KTFNQLNKEVKKELEDNGYEATDKNMQLLINWKETNESCIYCGESISL KEVLITEIEHILPKSKSMDNSHNNTTCSCLKCNKEKNNRTPYQYLTSKN MYEGFKNRVMNQYDKMSQDKKSNLLFEGDIDKYSIKFINRNLRDTSYA SVALVQELKKYNEYLGAKEGYKINIITSPGQLTSKIRQYLKIKDKDRTY LYHHVVDAMILASIPDTEIGKVLIEAQNDSQYWFKDKNKENKYKEEVY NMLNNVWLSNRDQIQKFNQDCDNMPDNNKEGLIKRSYEVLKNPVRQF SQYTEYAKYIKQNDVYYKISQIDNIYNLLIRKKDGSADKDKKLLDELFD LSNKKNKTLLCEKKDPKLYQKLKNIYEKNSFSINPFVDESKYMYGLED GDKFDCLKQGIRKTDNSNSPLVIKLRYLEKVTNPYIKNNITTRRKNLYN EFTINKPKKDTLIGLDGLKQVSTRIFYSYEDKKFIFLPICAISFVNGKLN KKEKNYQTTYNRLIGNKNVKEMGNIYVGEWVGVYKKNGEYFEGRYK GYHKTSNVLEYYINGLDTLSCATIGSSDLRIIIYTTDILGNRHIRLDTQKE I
MG87 효과기	11727	MG87-3 효과기	단백질	알려지지 않음	MTKNYSIGIDMGVNNIGWSILNNDTKKLENYGVRLFPTSNDAKERREV RNTRRRLKRKETRLDDTLYLLKKYGFNEDNTIEENLIEKRVKGLNEKL EKQDIVNILCYMIKHRGYIPFGDEEVTLVDLNGKYPCEFYYEMYKNGG KYRNRKMTVRITDNEKEIKKILETQSKYYKNINQDFINKYLNILTRKRK YWEGPGSINDLTPFGRFKTQEDVENYLEEKRKNPSYEKYIYEDLIKKC DYELEERCCCKLNIYYELFNMYQDFINVSFKNIEELENKDCFYETKNGL YKLNKKGLLMVKDYCMNNFKLKYTDILKKLFNTDKDNISGYRIDKDH KPEFSTLNSYRKIMLEFTEKGFDTTWVSDYNCYNEIMEKMTLTPGGVE FIKEIENNKLVPYKFNEEEKSLFKELKEYFNKKTLLSYGSLSQKILQKAI NDMLDLEKNFMQVSRIKDYGKEARENFIKQYKKTSNKLEINASFVDDII ASPQVKKSLRQAIKIINAIIEKEGCLPVSIAIESTKELNSDKKKKEIEKEQ KIQENLRKQASNYLSTVFGDSSVTETNILKVMLYNETNGHCAYCNKPL SINDIFADNIQVDHILPISKSFNDSFNNKIISCKKCNDDKKNNTPYQFLKN KNYFEEFEKRVLENKNISDYKKDNLLYKDDLDKYKTRFFNRNLRDTAY ATTELINQIEIFNNYLEILDKKRINTLSVPGQITSSIRNRYVKNEDKTSLE KNRDAGVFHHAVDASIVVSVSDTHIGQIMLKAQNDKEYWIKNKSNYDD IYKYLINLRIDDTINQIEKINNENIKVSKQVSKNPQGKLANSNIYKMIKK DNEQYIINQIDNIYTFDFKKDENKKLFEKLLNEENNEFTLLCYDNDKNT FNYIKKIYNEYKNEKGNPFVNYLIDKGEIPDGNSFDYDITGIRMVTKKG NGPIIKRLRYYSKKNDLYILNKKNINKKDSNYLALDSLKQFCVKVYVD NDNKKFVFLPIYTISLDPKTKKVNENDEFYKLFYNKYIGNKNVTFFADI

[0845]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					YNGNKLEITKKDGTIVSGYYSTFNKANNKLILNNGDTFTLSDKKISIIHT DILGNEKKG
MG88 효과기	11728	MG88-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MKYKIGLDLGSTSLGWAVVELNEADQITSLVDMGVRIFPDGRDAKSH KPINVIRREHRQMRRRGDRVLLRKKRVLQLIHKYGLDFDISADIKLED PYVLRARAVSDKLSSAELGRVLFHLALRRGFKSNRKETRGDSGGKLK KATLALHDAIGDKTLGEFQVDSKRYRFADQFDGNKIKDGALYPTRDM YLDEFNRICSVQNMSDDMRQQFEYAIFHQRPLVPPEIGTCMFELDQPR AYKFEPVFQRFRVLQQINQLRIINNGEIKELTAEQREKLQDALLATFCG VKRDKSGRPKITFAEVKKLLGLSRNTKFNLESEKRKDMDVDATAFAFA ECELADFWRACTDNVKSQVLAHLNDDELSDSDLVDYLAHEYGISQDK AEKLIQQPFEDGVANLSVCAMQKMLPFLEQGHLYHIAAKEAGYDHAD RGIVHLDTLPYYGDVMALRPSLVQDKMGRYRTMNATVHIALNQLRAV VNDLIARFDGEPYAINIEMGRDVSAGADERAEIEKQQAANKRENDRIAT ELVAMGVRVCRENIQKYKLWENLGKSPLDRRCVYTGEIISKEKLFSPE FEIEHILPFSRTLDDSMANKTISAAVANRFKGNRSPDEAFSDPKSPWKY EDVVARAQNLPDATKWRFNRGAMDVFLQGKECIARAMNDTRFMTRM AVTYLQHVCADKNRVNGMPGRLTASLRDEWHLNWVWKNKAEESKYR GNHIHHAIDAFVIACTDENILRKLADAKSDMHTPFPGFDYFDFKMRCE NTIISYRQSQKNPKDAHSTVGCLHEDTAYNLECFEDGGCGVNAVMSHR EELPTTDKDKKAFAKDFKNVNPKTLQMFLNDAGVANEEPDIAIKFLD WCAMRNIRKVRMYKTGVDVTTYVPVFRTKKQRDVYRAAYLNWYVN TGVASGIVDKKLRAVQQEKEKHLLQEFQDAAKQAYKWYVGGNNFCA EIFEIRDDDTRYPKLRGRWQVEILSNYNAQLNAGAPLWRHKYATAKRI MSLRINDMVMAEFSKDDPKLPKGLVETVAHQCAIEKTDKVNVVFRVK KLNSSGTVYLRPHFIAKEDADTKSWIASATSLQEHKARKVCVSPSGKIL GLK
MG88 효과기	11729	MG88-2 효과기	단백질	알려지지 않음	MNYRLGLDMGATSIGWSIYDVETEKLLDTGVRIFDDGREDKSKASLCV KRRNARGARKLNNRRHIKTQELLKILTTLGLFPQEQNKREDLKNDNP YKLRKEALDRQLSTYELGRTLMQLAKRKGFKSNRKDNREEGGKLKK GFAELKDIMQKENARTYGEFLYNCMQRNPDKPIRLKNTFDESGKYKG GLFPFREIYVNEFEQIWHKQKEYYPQILTDENKEKLKNIIFFQRPLKEA EEGECQFEKGEKRIPRAHPLFQEFRIWQNVLNLTFSAENEPDYKPLEK VQELIKLLMNPQEVKPNKQGIIIYANLKKALGLDKNGVFNFERQNNRD TDLEKGLLVNTTQNAINESEFLAPYWNNFSDAQKGELINVIMRPHNYIP FPKTRISIEEEDDLIINYVRKRFNLPQEAAEELLFDIDLEDDFGSLSEKAI SKILPFMKQGTPYHDACQSAGYHHSYKEYEHIDKLPYYGEILGQSCLG KKNNPKCVEEEFGKINNATVHVALNQIRHLINEIIMRYGKPYDIAVEYA RDLNASTQERLAMTDTRDKNELENQRIIKELQSKLGNHPYSKNDIQKY KIWKKLPFYDKNPLIRECPFSGEQIPLSELLNGQKFQIEHLIPFSRSLDD

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					SLNNKVIATVEANRYKGNRTPFEAFGQSKDGYNWKDIQHRAKKLSVE QQWRFAPDAMQRFEKQEGPIVRSLIDTRYMTRLLQDYLQPIVKEDGK QRVQAVVGQLTSLVRKAWGLNVYKEKADKDKYREFHNHHAIDAIVIS AINRAQIKDVVGILAHVRDDIREEYKDELFQLSDNNVPEDKKREIKKEI RDVTAKREIAIAKKYFPLPKSFNIPDILQQVAAINISHKPNLKNIKQKDS TIGQLHQDTAYGLQKFVDDKSLKAIFKTKKAGDEASDDKTTPKDITQY IPMFRNKEDKKAYYDAFREWFKFNGKAASMDAKTKEDKKLKAEIAQ KEQAAIQTLRQTALKAFKWFVGGNNFCAEIYEINPNNKIEGVASKDRG EWKTEIVSNYNATVRNSRGEDIAYWRYKYPNAKRIMSLRGNDMVMAT FSREQAFDEKFPKGIQEYVREKFQQKSDCQELDILFRVKKMGSNGICF TPHNIAKENADTKSWIASAGAMQKYRVRKIHISYMGRIQNA
MG88 효과기	11730	MG88-3 효과기	단백질	알려지지 않음	MKYKFAFDLGSTSCGWAVVNTDEDGNVVGLADMGVRIFPDGRNAKT KEPLQVARRNARGARVRNDRILQRRHKIIDLLKENGMIYDCSDERENP YKLRSDAVDKEITLKQLGRIMYNLSLRRGFKSNRKPTQKENDSDLKKA TEKLKQELKGQTLGQYLWGKMKKNLDKEKENKGKDVKNKIGKVRF SNLFDGNKIKDGSVYPSREMYEDEFNRIWSKQAEFHDILTDELKGKFY NAIFFQRPLKPQQRGFCMFEDGELRIYKAHPLFQRFRALQTINQMEID DKPLTEEQREALKKELFEEFKTKNTKAGTVSFSDIRTILGLKKGVKINL EKNDDDENDGDNTRADKTPEDKDNKKDDDKEYDNIYADKTAYLLSRP ECFGEKWFEIPFDEQCSIVDILTDCVYNNIEEKKKYDEQQEQNGKHILE DDEIKQFLQEHYNLDDEQCNAIMNAPLEEGTGSLSQKAIEKILPYLEEG QLYNDACKSAGYHHSLFDGDVEMLGELPYYGDVLKKSCVQDKDGNY RITNISVHVALNQLRLVVNELIKKYGNPDFVAVEIARDLKMGTEELKN LNNKQNSNKKENDKITKAIKEANGNPNNAKDREKFKLWELCQKRCVY TGKQISATELFSDRVHVDHILPFSRTFNNGFFNKVVCFGDANEDKGNST PYEAFKNGYQGQSYEEILDRVKKIVEAMKEKKMFKKKTVKDKDGKK KKVDIDEFSWRFKEDAMEKFKEQEGLIARQLNDTKYMSRLAVQYLKH ICKVEYYTDEEGKEHRKNNCYGLPGTMTDFCRKGWGVNWLKDKSNK EGYRSSHAHHAVDAFVVACMTRGQLQKIASMANWIEEHGGQCQDDK LYLSILFKKCKKPFDTFDRERIYELCDKMPISFKPKLKDPKQENSTVGA LCEDTAYSLLEFDKGLNGVFVKREDVGSLVLKDLPNIIDTQADKLIKEY VETEEAFNKFKEYCEKNGIKKIRCKSFADVSTYIPIFKTKEERDEYHKA YEDWFIFEGRSPANETEEQKQERKEKEQELLKIVQQKALKAYKWFVG GNNFCADVYQISPRDKVYTDKKEQGSWKVEVLSNYMATLNKGQALW RKKHPTARLVMRLKIDDMVMGENFTKEEAEQKLQQEIEKWEKSKEM KKYKDKLTEWEKTHEGKEPKKPEKPKSINEIIIEKCNKEKTSSTSFLFR VKKISSDGSVYIRPDFITKEESDKKSVKLSASSYQKYKIRKVFVSPAGKL VDNGFSDKWNDTKCN

[0846]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
MG89 효과기	11731	MG89-2 효과기	단백질	알려지지 않음	MSYVLGLDLGIASVGWSIVEPGNRIIDLGVRVFKKAETDKEGDPLNLIR RESRLSRRRLVYRRAHRLSRLLNFLISSGLIHSKDEVLKNVYNENPWALR TLGLNSVLTNNQLARVIYHICKHRGFYWASSADDGQADNGKIKKSLSS NQLVMKEKGYKTVGQMIFTEYPNCQRNKSGEYSKSLPRTDLDKELRA IFKAQQSFSNPIVTKDFINAIVGCGDRKTGFLWEQRPALQGEDLLKMV GHCRFEKDELRAPAANFYSEQLVWLTKINNLRVYDEDSQERPLTREER DLILNMPLEMKSDIKYSSLTSAFEKANLWKSGQFKYKSVDYEQKTQKK KNTAKSVDITKSSKKNPEDKVFYKSSHLHEIRKALGSSLSEEWEKIRTE VLSGKYDRYNRIAYVLTVYKEDSDVIEQLSPYESRTLIEALLPVRFSGFV ALSEKSLKKIIPHMVLGKRYDEACSEANYKHYKQNQAEFKKLKYLPPL FSGREPNGTLIFNEEIGDIPRNPVVLRVINQTRKVVNAIVKKYGSPKSVH IELARDLAKSRAERNEIEKRNEEAASRHIKERDEFEKLFGSKCLNGTNL LKYRLYKEQDCKSMYSSKEIDHKRLFEKGYVQIDHILPYSRSYDDSQSN KVLVLTNENQDKGNRIPFEYFEAKQHGFSWYEFEQWVKSCKNLNQKK KRNLLRCSLSKDAKKDFLERNLNDTRYACRFVKNYIDSFLCLSENSDNS GCVVVAGQLTAYLRNCWGLNKVREENDRHHALDATVIACCTRKIVQ KVGAWSKSREMNSYNSSYVDPDSPVDEDEKLLQKLYVNTRKPDFPKP WECFRSEVESRVFESALEKLKEKLKLQCSYTESELKNVRTLFVSRACE KIGKGALHGDTVYRQTSEMRKENVAVKKVSLKKLKYARIEAIVDADT RNKNLCDALKKRYEEYARKIGKKIEDFVDKDIAKIFADDNPLHMPNSD GQEDPCNPIVKSVRVKEAFSGVPIRNGVAGNSTIIRVDLFKKDGKYYCI PVYAWNKTLPNRAYVSGKKETDWALVDDSFEWCFSIRQNELLKIKLK GETIFGYYNGFDRDRGSFNILLHDRQDGKDHKQGLIRKGIKTAISITKY DVDVLGNYYLSKPEKRLELA
MG89 효과기	11732	MG89-3 효과기	단백질	알려지지 않음	MDLIFGLDLGIASVGWSVVDDENKRIVDLGVRAFKAAETEDKGKSLNL VRRTSRLSRRRIYRRANRLNSLLNYLIKSGLISSKDEILNNEHHENPWNL RVKGLDGVLSNNQLARIIYHICKHRGFYWSSSAEETEDTEKGKIKKCL AQNSLALTNEHFRTIGETILNKYPDAQRNKADEYTKSISRVLLNEELKQ ILTVQKEVFHNPLLTDDFFKAILGTGDKKSGFLWKQKPPLQGEQLLK MVGHCRFEKDELRSPKANYFAERHVWLTKLLNLRIYSEDCEDRALTV EEISIVINKIYEQKSDIRYSSLTTAFVKSGIWPKNHQYKYKGLNYDQLTS SKKKKVEDTASTSEDSTDTKKTAKKTNPESKIFYKSSCYQNIKDAYMSN SLEQEWNILSTQISQGNYDRYNRIAYILSIYKDDEEVKKHLLDCGEKSE VAEALLKIRFNGFSALSEKALKKIVPIMEQGKRFDVACSEAGYAHYKQ SQDSKEKRKYLPPLFSGREPNGTLIINSELDDLPRNPVVMRVINQTRKV VNALVKKYGSPKSVHIELARDLSKTFEERIDIQKRQEEIKERRQKEQEE FDRIFGVGIRSGKNLEKYSLYKQQDCKSIYSGETIDLGRLFEQGYVEVD HVLPYSRSFNDSQDNKVLVLTKENQNKGNMLPYEYFMSHNLDWNQFE ARVLSNKKLRKNKRCNLLKKSLNRNSKKEFLDRNLNDTRYACRFVKN

[0847]

[0848]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					FIDKYLRLSDKADKSGCVVVSGQLTAYLRKHWGLNKNRSENDRHHAV DATVVACCSRRMVQLIGYWSKHKERQYLKDSQSDPDLESDEELLLKK SIGSQKLYFPYPWVKFRKELNLRVFSSDIEELKNELSLFESYTEEDISKV KTLFVSRAIQKIGRGALHADTVRSQTEEMNKEKVAVSRVKLSELSYDR ISKIVDSDTRNKNLCNALKRRFEAYCKSNNINEISKLKAKDSAKIFTTNN PMHMPNSNGEEDPLNPVVRTVRVKETFSGVPIRHGIAGNGDIFRVDIFF KEGKYYLVPIYAIAKELPNRACVAKKHESEWTVIDDTYQWCFSVTQYD LIKIELKKETYFGYFNGFDRATGAVNILHDRSTEKYKKGLIRSIGLKTA KSVTKYRVDVLGNYYLAGAEKRLELA
MG94 효과기	11733	MG94-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MRKKIRYVIGLDIGIASVGWAALLLDENDNVCGIVRAGVHTFDEAVVG QSKITGAAYRRGYRSGRRSIRRKVNRIQRVKNLLQRLNIISKKDLEEYF SGAVENIYYLRCAAIQNEPAYILNNKELAQLLIYYAKHRGYKSNTSYEQ KTDDSKKVLSALSENKKYMLEKGYQTAGEMLYRDEKFRRKRYGSSEE CELLLVRNSGDDYSHSISRELLVEEVHVIFARQRELGNKLTTKELEDQF VEIMQSQRNYDEGSGEGSPYGGNLIEKMVGECTFEKGEKRACKASYTS ERFVLLEKLNHLRIQSKNGDVRALTEEERDAIIKLAYKNKDVKYKALR TILKLNPDERFGGLTYSRGDIENSTEGKSVFVSLEYWYEIKKVLGLFYD DLDNEETQQLLDSIGTILTCYKSDDLRRRKFEQLHLEQEKIEHLLALNY TKFQNLSFKAMKNIMPELEKGLSYTEACSNAGYGDKETIEGKNKYISK ELLNNTLDSIMNPTVKRAVRRTIRILNELIKQYGSPVEVHVEMARDLTH SQTVTNKMKKRQDENKAEKEEAKRFICENFGKTEAQVSGKDILRYRL WKSQNQIDIYSNTMIPVSDILDYEKYEVDHIIPYSCSFNDSFNNKMLVRK KDNQDKKNRTPYEYIGSDEKKWEAFATCANTYVMNYGKRKNMLTKV PASNTGEWMSRNLNDTRYTTKVVTDLIRKHLKFEAYVDQKRKKHIYPI NGGITAKLRYEWGLEKDREKSDKHHAQDAVVIACCTDGMIQRLSRQV MLQEIGIVTWKNHKLVDRRTGEIVEETNLPWECFREEVEMFMADSPE DYIEKAKKNGYKGEAPKPIFVSRLPQKKTTGKINEDTLRSVRIDSKGKA RFVNKTKLQDLKLVEVDGKKQIKDYYRPEDDKLLYDKLLERLVKNDD AKVVFAEPFYKPKKDGSDGPIVRSVKTYGKTVKNQVLVGDGVAERGG IYRCDVFKRKDEYYAVVVYYRDLYIGNLPNNAAHFDIEMKKGEFFSL YKDDLIRFVKDGKEQVAYYKYINANNSQITYTEHDTSKETKCTTIRTLD KFQKMNVDLLGNIYSSDKEEREWN*
MG16 효과기	11734	MG16-3 효과기	단백질	알려지지 않음	MATKKILGLDLGTNSIGWALIETEDSNPKSILAMGSRIVPLSTDDSTQFA KGQAITKNADRTQKRTARKGLNRYQMRRAMLTEELRRHGMLPERTD ENIMDLWRLRSDAATDGKQLSLPQIGRVLYHNQKRGYKHSKADNSA NTKQTKYVEAVNQRYRDIQACHQTIGQYFYEQLLSSAVQTPSGSYYTY RIKDKVLPREAYIAEFDQIMKVQRVFYPDVLTDELVDTLRNHIIFYQRP LKSCKHLVSLCEFEKRPFKREDGQIVYSGPKCAPRTSPLAQFCTVWEA VNNITLTNRQNETFEITQEQRVAMADFLNQHDKMGVKDLQKILGISPK

[0849]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					DGWWAGKAIGKGLKGNTTFTQLREALGNLPNAEHLLKMKLSMVDAA VDTTTGELIRQVSPQVEEEPLFRLWHLVYSLQNEDELRKALRKQFGID DEEVLDKLCKIDFVKPGYANKSHKFIRKLLPYLMEGYQYHEACAHIGV NHSDSLTAEQNAARPLLDKIPLLEKNELRQPVIEKILNQMINVVNALKA EYGDIDDVRIELARELKSSKDEREAAFKRNNENERQNKIYENRIREYGI QPSRSRIQKYKMWEESNHLCFYCGKPVNVTDFLAGAEVEIEHIIPQSVL FDDSYSNKVCACRACNQAKGNLTAREFMEKHSKEEYDSYLRRVDDAF NAHRISKTKRDHLLWRKEDIPQDFIDRQLLQSQYIAKKAAEILRQGYR NVYATSGSVTDFLRHQWGYDEILHRLNLPRYQQVEGLTEDVTYDHCG QEHQQERIKGWTKRLDHRHHAIDALTIALTQQSVIQRLNTLNNSREQ MFDELGKRTDTPEYTEKRSLLEKWVDAQPHFSVQEVTDKVDGILVSFR AGKRAATPAKRAVYQNGKRHIVQTGLQVPRGALSEETVYGKLGNKY VVKYPLGHQSMKMDDIVDPTIREIVRTRLNAFGGKAKDAFAEPLYSDA AHQMQIKTVRCYTGLQDKAVVPVRFNAQGEPVGFVKMGNNHHIAIYR DAKGQYQESVVSFWQAVERKRYGIPVVIEQPHEVWDKLINSDNIPQDF LETLPHDDWQFVVSLQQNEMFILGMDDADFEAAMEQKDYRTLNKYL YRVQKISSKEYCFRYHTETSVDDKYDGVINKSISMELQKLKRLTSISAFF SQHPHKVRVNLLGEVSAL
MG2 효과기	11735	MG2-4 효과기	단백질	알려지지 않음	MNSTRSTPLVLSFDIGYASIGWSVAEVVDPANNLQAGVVTFPSDDVLNS ERAGHRRARRNIAARRNRVQRLKLASVGAGFVTAEEIETLDRMERKS APEWRHCPWFLAARVLGESPESTLTGLQLFHVLRWYAHNRGYAPPSW GLFDEADGEQEEDFEKVRNAEKAMHEFGADTMAQTWCALLDADPTA GRWPEPRHWAKGENMAFPRERVQAEVTRLLVAHVGKLPGVTSDFVR CLIDDWEHHPKIRSWLQGADPRTGKLRDYALPKRYEGGLLFGQHIPR FDNKIIPWCPFTLKEDTNSGKISGRNVPKKHSRAFLDFKVAMRLNDLA LSELGESGGRLSAGQRMTLFKRIEGYGDVTVRQFADLVAEVCAIPKPD LTTRIPEREGSDRPFELRPERKALIAILTGGRSLPSWPLIHSIWDCFEDA EAVLRPVFHGKPTSWADLIEQAKAPDVLLERLEELFRLGKGKPSRSKK AQPPPDFEVLLRCKITITKAHGRARYCSDKLRAATDEALGGLDPRRAP TTETSDDAGCLYLNERQRDLQDRLPLSKLTNNHLVRHRLLIFRRLLQD LVNTYANGDRERIDAIVVEVARDLNEYSGKNTKQRVALFQEKQRPFND AAEAFAQALIDDAQYTPEQAQALATYANVRRFRLMREQNFECPFTGR HLSAEDIAKDRVDFEHIIPRSLKPTDSLDAMVITYRAVNQAKRNRTAMR FIKDMAGERLDADDAGWSYHTPQQFETAVNRMRPKGRLNTAAKRSQ ANRCDALLVEDYEPREADFLQRDLTQTGYLMKYAVGEARKFFRSAPR QPRFIHLEGRVTTFFKKAWRLTETLAPISPLFLREYADPRTGRWQSTV RPKAELRRFTQLHHALDALTLGLATALVPGIERKELRRALSLRQAKGD DATLLRSDPKLGEALRWRTEDRFEAAPLSGKLESAVRRALAEGRVVQ HVPAKRQGMKVDSNFFGFVEFDETGRLRVRQKMRSPTTRRREIKTTV

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					KNGKNLHTLSHLSLDPKSWLGAPDHPLRRKQLEHGLRTENDLANPKL GNIRGMLPIRENWGIALITKDGSPRLDVIPYINVHQWLEVLALENGGGS PVVLRKGHLVGFDAEKCPEEYCGAWMLLGVKDGRSGTTLELIRPWM VAPRKGGTKESSAKQAIKPASGYSEKEGKASGVFLQRSADVFLKLGLR PLDHDLTGIAAF
MG21 효과기	11736	MG21-2 효과기	단백질	알려지지 않음	HNTSGVYDLTVARTFIEEEAHKLFAAQRQFGNAFATENIENEYCEILLS QRHFSDGPGGERTFKFDLRGNCTFEKDELRAFKACYTFEFFKLLQDIN HLRIIPEYRKGSNKQTRPLTPEERQKIIDLCLKSSSIDFSKLRKELKLAD DEIFNRVGYDVKKKKSKKKDAEEQPEEQLTPEQQRTKCEEATKFTQM QSYHEMRKALDKVAKGTISKFSHDKLDEIGEILSLYKADDKRRERLEQ IGLSNEEIEALLPLTFTKAGNLSLGAMRKLIPYLEQGLTYDKACEIVYG DHRAQYKGERMPLLSFGKLKEEGALDSVNNPVVLRAIAQTFKVVNAII RRYGSPQAIHIELARDMKRNFADRQDIKSKQKDNWSENNRRREKVEEI KGSVATGQDIVKMKLYEDQNGVCLYSGKQLELHRLFEVGYAEVDHIV PYSKCFDDSYNNKVLVFSSENQRKGNRLPLEYMLAEGDEDKLDDYVTL VEANIKNTRKKQRLLKPCLTEQDITDWKARNLTDTQYITKAVADILRN YLAFEEDSPFIKKPVRSINGAVTDQVRKRLGLQKHREEGDLHHAMDA AVIAVTTDGYINRISRYTQRREFGKRIGCYKDKQTGEKVEIERQKGQA PLYIDPETGEKLTEQVFDHKYAPTFPAPWKEFTKELKARMAPNADEAI RQLYLPSYGSEEIKPIFVSQMPDRKISGQAHAETIRSARIDVDESGKERII AVAKTPLTSLKLDKDGEIDGYYMPSSDRLLYEELKNRLIKTKTSGKTY GNAEQAFKEPVYKPKKDGSQGPRVYKVKTWKPTTSNVKVAGGIAKK GDIVRVDIFHITGGKDQGYYFVPIYVADTIKNTLPKHAVVTNFKSSKVE WKEMDDSNFIFSLYKGDLIHIELCADCRDKDSNNKIRKAKDMYVYYDG
MG22 효과기	11737	MG22-2 효과기	단백질	알려지지 않음	MKNILGLDLGTNSIGWAWIQSKVPQQTDDCPSSSEYLMPDCATIRMAG SRVLPMDGKMLSGFESGLAVSKTKERTTYRMARRVNERFQLRRERLN RVLRILGFLPAHYEACLDRYGKIDEEKNVTIPWVVPTADGKRKFLFYAS FLEMKERFHEHHPNLEKIPLDWTLYYLRTKALQQAITKEELAWVLHS FNQKRGYNQSRDEVKDEDASQKEEYVKVKVVSVVDSGEKKKGKTSYI VTTESNLQFTTENAAAPSWLDKEREFIVTTKLNPTGLPKMNQEGRIDC TVRIPKEEDWELKKKRTEALIADSHMTVGEYIFHSLLDNPDAKIKGAK VGTIDRHFYKEELIAILKKQAAFHPELKDAERYAECVSALYASNEMHR NILSAWDMPRLIVNDIIFYQRPLKSKKSDIAECPFESRYFMDKEKKLQK QGIKCIPTSHPHFQEYRIWQFLSNLRVLRREVRENGRYMTDVDVSAHY LTDKVKVELYEWLAGKANVKQKELLSKLRMSEKEFRWNYVEDNIYP CGETRSLLSTRLKKAKLPLSLLDSPSSDGSHTFEFELWHILYSVSDLAEL RKALRRFARKHDFTAEQQEAFVETFVKCPPFKKDYGAYSDKALVKLL SLMRIGKYWNADRIDTNTRRRIACLLDGEACDSISLRTREKVAERGLQ QSIEQFQGLPQSLACYVVYDRHAEASEVVRWESPADLQQFTRQFKQYS

[0850]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					LRNPIVEQVVLETLRVVHDLWEEIQKDGGTIDEIHLEMGRDLKNTAEQ RARIMRRNRENEMTNFRIKLLLQELHDCQPDIEGIRPYSPSQQELLRLY EETVWESESGKLGGKEASKDIPDDIKKIRDLLSKPSDKPIPQSAIQRYRL WLDQKYLSPYTGRPIPLARLFTADYEIEHIIPRSIFFDDSYANKVICESAV NKLKNNRLGMQFIREMDGRVETVKLGEGRETSILSVDGYVDLVNDLF RNNPRKRNNLLAEEITEDFCHRQLSDTRYIARYIKGILSNIVRQRAADG TLEQEATSKNLIVCTGQITDRVKQDWGLNDVWNHIITPRFERLNRMTG SNDYGEWCCKEGKRYFQTRVPLHLQIGFNKKRIDHRHHAMDAIAIAC VNRNVVNYLNNAAAHATDRMDLRMRICRPSGNGQTKKEIRSPWKNFA HDAECALQAITVSFKQNVRIITKATNTYEGYDASGKKVRRCQTSSDHY SIRKPLHKDTVYGEVVLPVVNQVPLKKALLRVNRIVNGKLRKKIQEM QSSGLTDKQIVDFFMKTCADSPEWNSINFKKIEVRAYSNEEGQTRMAAI RTAIDESFSEKVIGSITDVSIQRILLNHLRECNGDSEEAFSPEGIETMNRN IVRLNGGKPHLPIYKVRLGEAMGKKFAVGQRGNKGKKFVITAKNTNL FFAVYANDEGKRSFETIDLHCALEMQKQGSSVAPPINENGDKLLFVLSP NDLVYVPSESELQHDIDSEDLKLDHVFKVVSFSENRCCFVPHSMSSPIAA GFEFNSPNKIEVVSRLGLFEQDKETVSIKNICLPIKMDRLGHLHLVKI
MG23 효과기	11738	MG23-2 효과기	단백질	알려지지 않음	MSEKIPYYIGLDMGTNSVGWAVTDENYKILRGKGKDMWGVRLFDEA QTAAERRTNRVSRRRRQREVARIGLVKEYFADALNAVDPGFMVRLEE SKYWLEDRSEENQQKFALFNDKDFTDKEYYTVYPTIFHLRKELIESTE QHDVRLVYLAILNLFKRRGHFLNKSLESDGETMSMAEAYAALVDEAA ALEITLPMPIDAKKLEEVLSQKGVSRKFVEQDTNEFFGFSKKASEAREL VKLMCGLTGKMRNIYGEELIDDDNKKLALSFRSNDYEEKMNEVAELV GDENMRLLEAVKEVHDIALLANILSGEQYLSVARVKQYNKHKEDLQQ LKRVLRTYDKAAYKKMFRVMGKDNYSAYVGSVNYKEHKERRNAGA GKDGESFRKAVEKVIDALPEEAQLDQDVIEIREKIKNEAFLPKQLTSAN GIIPNQVHLRELKRILENASGYLPFLNEIDESGLTVKERIAQLYEFQIPY YVGPLSKQNSKNAWANRRPGEEKGRILPWNFEQKIDVNQAAEDFIKR MVRHCSYLDAEFTLPKQSLMYEKYMVLNELNNLRINGEKPTVLQKQQ IYNELFGKGKRITQKALINYLKDEGIVEKDSEPIISGIDGDFKASLSTFG KLRTVLKEEARKDSSQEMMDQIVFWATVYGDDKRFIRARIEEHYSEIL DDHAIKQLLGMKFNGWGNLSKAFLEMEGASKEDGVYRSVIQALWET NDNLMELLGQRYTYKEELEKRVQTKEKPLAEWTIDDLDGMYLSPSVK RMVWQTLKIIREITEVRGSAPSKIFVEMARDDAQTKAKNKGKRTKSRK DFLLECYKDDKAWKDELTSVDDGELRAKKLYLYYLQMGRCMYSGEA IDLASLMSGNTMYDIDHIIPRHFVKDDSLENNLVLVKKDKNAHKSDNY PLESEIRNKQFGFWKSLLDKGLITKTKFTRLIRSEDFSPEELAGFINRQL VETRQGTKAITKILQQAFPDDDMEVVFTKAGVAAKLRHDFDLVKVRC VNDTHHAHDAYLNIVAGNVYNAKFTSNPLRFIKNEVKKGNASYHMDKI

[0851]

[0852]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					FFRDVKRGNKLVWQAPNNEEKTPGTIAIVREQLARRTVLQTRRSYMA HGILSDATIYSKDTAKTESYRPVKSSDERLSDVKKYGGMTSIKNTAYAL VEYTVKGKTIRSLEGVPIYLGNCSKDDKKLLQYLQEILQRENKNKQVE NVSVRMYPIRQRSYLKVDGYYYYLGGATGSSVYLLDAMSVYLSKEDM GYVKKVEKAVAQQRYDECTKEGEFVLTREKNMDLYNKLVDKFSHGV FIKRKASILKTLEEGIDVFSELNIEKQCGIIMQIFAWTITSQQNVNLTDIG GVAHAGTLLISKKLSTSREALLIEQSLTGLWSKTTDLLTV
MG3 효과기	11739	MG3-3 효과기	단백질	알려지지 않음	MSADSLNYRIGVDVGDRSVGLAAIELDDDGFPLKKLAMVTFRHDGGK DPATGKTPKSRKETAGVARRTMRMRRRKKKRLKDLDKKLRDLGYFV PRDEEPQTYEAWSSRARLAESRFEDPHERGEHLVRAVRHMARHRGW RNPWWSFSQLEEASQEPSETFGRILERAQHEWGERVSDNATLGMLGA LAANNNILLRPRRVEHNPKTGKNAEKLNVRGQEPILLDKVRQEDVLAE LRRICKVQGIEDQYPELAHAVFTQVRPYVPTERVGKDPLQPMKIRASR ASLEFQEFRIRDAVANLRIRVGGSERRPLTEEEYDRAVDYLMEYSDTTP PTWGEVADELEIAENTLIAPVIDDVRLNVAPYDRSSAIVEAKLKRKTQA RQWWDDDANLDLRSQLILLVSDATDDTARVAENSGLLEVFESWSDEE KQTLQDLKFDSGRAAYSIDTLNKLNAYMHEHRVGLHEARQNVFGVSD TWRPPRDRLDEPTGQPTVDRVLTIVRRFILDCERAWGRPQKIVVEHAR TGLMGPSQRADVLKEIARNRNANERIRQELREGGIEAPNRADIRRNSII QDQESQCLYCGKEIGVLTAELDHIVPRAGGGSSKRENLAAVCRACNAS KGSRPFAVWAGPARLERTIQRLRELQAFKTKSKKRTLNAIIRRLKQRE EDEPIDERSLASTSYAATSIRERLEQHFNDDLPDGFAPVAVDVYGGSLT RESRRAGGIDKSIMLRGQSDKNRFDVRHHAIDAAVMTLLNPSVAVTLE QRRMLKQENDYSSPRGQHDNGWRDFIGRGEASQSKFLHWKKTAVVL ADLISEAIEQDTIPVVVNPLRLRPQNGSVHKDTVEAVLERTVGDSWTDK QVSRIVDPNTYIAFLSLLGRKKELDADHQRLVSVSAGVKLLADERVQIF PEEAASILTPRGVVVKIGDSIHHARLYGWKNQRGDIQVGMLRVFGAEFP WFMRESGVKDILRVPIPQGSQSYRDLAATTRKFIENGQATEFGWITQN DEIEISAEEYLATDKGDILSDFLGILPEIRWKVTGIEDNRRIRLRPLLLSS EAIPNMLNGRLLTQEEHDLIALVINKGVRVVVSTFLALPSTKIIRRNNL GIPRWRGNGHLPTSLDIQRAATQALEGRD
MG3 효과기	11740	MG3-4 효과기	단백질	알려지지 않음	MSTDPKNYRIGVDVGDRSVGLAAIEFDDAGFPIQKLALVTFRHDGGLD PTKNKTPVSRKKTRGDARRTMRMNRRRKQRLRDLDMMLTNLGYTVP EGPEPETYEAWTSRALLASIKLANVDELNEHLVRAVRHMARHRGWAN PWWSIDRLENASREPSETFEIILARARELFGEKVPADPTLGMLGALAAN NEVLLRPRDGKKKKTGYVRGTPLLVAKVRQEDQLAELRRICEIQGIEG QYDALRSAIFTHKMAYVPTERVGKDPLNPSKNRTIRASLEFQEFRILDS VANLRVRTDSRSKRELTEAEYDVAVEFLMSYTANEQPSWADVAEVIGV PGNRLIAPVLEDVQQKTAPFDRSSAAFEKAMGKKTEARQWWESTDDD

[0853]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					QLRSLFISFLVDATDDTEEAAAEAGLPELYMSWPAEEREVLSDIDFEKG RVAYSQETLSKLSEYMHEYRVGLHEARKAVFGVDDTWRPPLDKLDEQ TGQPTVDRVLTILRRFVLDCERQWGRPRAITVEHARTGLVGPAQRQEI LNEQKKNRENNELIRGDLRKSGVENPSRAEVRRHLIVQEQESQCLYCG AVIRTDTSELDHIVPRAGGGSSRRENMAAVCHYCNSKKKRTLFYDWA GPVKLQETVDRVRQLEAFKDSKKAKMFKNQIRRLKQTEADVPIDERSL ASTSYAAVAVRERLEQHFNEGLAPDDKSRVVLDVYAGAVTRESRRAG GIDERILLRGERDKNRFDVRHHAIDAAVMTLLNRSVALTLEQRSQLRR AFYELELDKLDRDQLKPGEDWRNFTGLYEASQNKFSEWKKAATVLGD LLAEAIEDDAIAVVSPLRLRPQNGSVHDDTINAVKKLTLGSAWPADAV KRIVDPEIYLAMKDVLGKLKELPEDSARSLELSDGRYIEADDEVLFFPK KAASILTPRGAAEIGNSIHHARLYSWLTKKGELKFGMLRVYGAEFPWL MRESGSRDVLHMPIHPGSQSFRGMQDGVRKAVESGEAVEFGWITQDD ELEFDPEDYIAHGGDDELNRLLRVMPERRWRVDGFYNAGTLRIRPALL SAEQLPSELQKKVADKTLSDVELILLRAVQRGLFVAISSFLPLESLKVIR RNNLGFPRWRGNGNLPTSFEVRSSALRALGVEG
MG4 효과기	11741	MG4-2 효과기	단백질	알려지지 않음	MLREPGNSVKSKIMGQQAKRRSYVLGLDIGTHSVGWALLKFRDGRPC GVERAGVRIFEPGVEEVAFERGRAEPPGQKRRQARALRRQTERRARR KAKLLHILQRAGLLPKGEADEILPALDRDILARHSAAWPGARDALPYW LRSGALDHRLEPHEFGRALYHLGQRRGFLSNRRAPMRKNEEDGKVKA GISTLKEQMEKAGARTLGEFFAGLDPHQERIRQRYTSREMYEQEFEAV WSAQAAHHPAILTDDLKARVHHAVFHQRPLHNQSYLAGSCTLEPDRK RTPWACLIAQRFRMLQKLNDTRVLPASGPERPLSDEERQTVLTELDRK KELKFDRVRKLLGLSADSSFNWESGGEDRLVGNTTNARLAKVFGKRW WSLSPDDRDQVVEDVRSYEKAEALARRGREHWGLDEKAAGELSKLSL EDGYCRLSRQAIERLLPGMEKGTAYMELVRKLYPDRWAAGKPVDLLP ALAETDLDMRNPVVRRCLTELRKVVNAVVRHYGKPSAIRIELARDLRK SAKQREQTWRRNRRNQQDREAAAEKLLQEARIANPSRADVEKVLLAE ECGWHCPYTGHGFGMADLFGPHPHFDVEHIVPFSRSLDNSFLNKTICE ARENRDRKRNHTPYEAYGADAERWDQIIARVQSFRGTASREKLRRFQ QHEVEDLDGVAQRELNDTRYASLLAVQYVGMLYGGAVDAGHVRRVQ AAKGGTTGYLRDMYGLGFVLGEGRKERSDHRHHAVDAVAIALTDPA ALKSISQAASDERRGGRVSFGAVALPWVDFIGDVQAAIEAINVSHRPSR KVNGALHEETFYGPRGMDGDGRPTGYVQRKPVERLSAKEIPNIPDPAV REAVQAKLDEVGGTPAQAFKDPANHPVRKRGIPVHKVRLRLNINPVQ VGSGATERHVLTGSNHHMEIIEVRDAKGGKKWTGRLVHRLEAKRRA LGRETIVDRAVQAGRQFQFSLSPGDMIELTGEDGERKLHVVRSISEGRI EYVDARDARKKADIRASGDWRKPAVGSLLRLHCRKVVVTPFGEIRYA ND

[0854]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
MG44 효과기	11742	MG44-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MEKFYLGADIGTNSVGIACTDENYELIRAKGKDCWAVRLFDESKTAET RRNFRTSRRRLERRKQRISWLQALFAPYINDETFFIRLNNSQFLPEDKD EILQADKNALFGDEGYTDKNYHVEFPTIYHLREKLIEGGKYDLKLYYL TIHHIVKYRGHFLFEGATMEEIRDIKRLFENLNAVWEATYAENVPHINL AKSDEAKEILLDTKKGLRDKQIALEKLFGENTALMKESIKAMLGGKIS PETLFGEEYKDEKSFSFKDMDEEAFDALQSTYGDNFECLNALRSIYNFV AFEKLLCGHKNISSAMIAVYNKHAADLSLLKSFIRSERPNDYNKIFKSTT EKANYVNYIGYTKKGGEKKKVAKCKSDDEFFAYMKKYLSSLDDIKDG ATRDKILGEIENGSFLPKILHSDKGLFPRQVNEAELKAIASNMVKYYPE TKEIADKIIPLFEYRIPYFVGPLAGVNSWAVRKSGEITPWNIGEKIDLAA SNEEFMRKMTSKCSYIFGEDVLPKCSIIYQKFDVLNQLNKLRVNDRPLT VDLKKGIFNELFLKYPKVSDKKIKDYLIRNGHFSPTDGEITLSGKDGEF KASMSSYIQLKRILGDFVDKDLENGGEVCENIILWHTLNTDKKIVYDLI EKRYKNIPEIADSVKALKGLSFKNFGRLSKKFLVDLYSADNETGELVNI LDVLYETNENLNEILNDEKYAFGKLVDEANGVADSKITYEDIEKLYVSP AVRRGIWQTVTMIDEYVEAIGRTPDKIFVEVTREDGVKGDAGRTQPRK RQLQEKYKNVSKTYADVISELGDEKYSDMKLRQERLFLYFRQLGKCM YSGQRIDLDRLDTDTYDVDHILPRTFIKDDSLDNKVLVLRSKNAEKADR YPLPQGFSDQQDFWKMLLDKNLIAKTTYDRLTRTEPLGDNDYKDFINR QKVITDQTVKAVAELMKRKYPTAKIVYSKAKNVNDFKNKFDIFKCRET NDLHHARDAYLNVVVGNVYDTVFSNPLDMFRKDGDMWRTYNLKKLF TRDVKGAWDCSRIARIKSICGSHTMAVTRYAYCNKGEFYNQTVYGKD DAGVSSPRKSNGPLSDTKKYGGYKSQTTAYFAIVSSLDKKDNRVKTIEA VPVLVAYRLKNNPKAVEEYFNSYLKSPEVLIPKIKNKQLVSYNGSLVYI AGVTGDRISVHNATQLFTDNKMDEYVNGLLKLLDMDAKKMLVGDEP RYVIKTNRNKEEKLVIDKEKNVELYGYLKNKLCDKIYSGLSAFATFAK NIENGKEKFIDLTIVEQAKVLIQILMMFKRKDILSDLTLIGGSSHSGKIL FNKKIDDVNFEIIHLSPAGLRVIKNKV
MG46 효과기	11743	MG46-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MKENYYLGLDIGTNSVGYAVTDGGFNLLKYKGEPMWGSHVFEEGKQ CSDRRMHRTARRRLDRRQQRVHLTQEIFAKAISEVDERFFVRLKESAL FREDTSGRDTYIFFQDENYTDKEYHRDYPTIHHLIKELMEDTTPHDVRL VYLAVAWLMAHRGHFLSEVNKDNITELLDFDSIYGNLMELFTTPPWIC SDKEEFKNILLLHQTIKNKERKFWGLLYEGKKPKTDEEDYINKEGMIR LLSGGTVEAGKLFNQKEFQEKISISLKKSEEDFQLLLDEMDEEDSEYLI RLRALYDWALLVDSLHGCSSISEAKVQDYAQHEADLKMLKNFVRKYC PNEYAAIFKNAEKENYASYVYNIPKGKRTKEYKKKITQEEFCDYLKKK LKDIQIEEEDQEIYQDMMFRLETYTFMPKQVTGDNRVIPYQLYYDELK KILENAENYLPFLKKVDEQGISNKTKLLSIFEFRIPYYVGPLCSASKYA WLKRKAEGKIYPWNFEEKVDLDQSEKAFINRMTNNCSYLPGETVLPQ

[0855]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					NSLLYCKFTVLNEINNIKINGIPISVECKQEIYRLFEENKKVTVDKIKKY LISNNYMEKEDVLGGIDITIKSSLKPQHDFKRLLHSKILNEKEVEQIIECI TYSEEKSRVLRRLEREFPKLSDEDRRYLSKLKYSGFGRLSREFFTGIHG ANKETGESFSIIQALWDTNDNLMQLLSDRYTFKDSIEEEQRQYYEEHP MTVESLLEEMYVSNAVKRPIYRTLDVIKDIQSVCKAAPKKIYIEMARG QEEGSNRKRSRKDQILELYKNMDKGEVRELSKQLEDCSDRELRSEVLF LYFMQLGRSMYSGKPIDIEKLKTNAYDVDHIYPQCRVKDDSLSNKVLV LSEENRAKGDKYPISAVIRQNMGEMWRVYHEKGLISDEKYRRLTRVS AFSNAEKMEFINRQLVETRQSTKALTRIFRYIFPETEIVFVKAGLVSDFR NEVLKCAKSRIVNDLHHAKDAYLNIVAGEVYHARFTSKFFKIDQDEYS VKTKAIFGNKVWNGKELVWDGEKDIARVKKILTKNSVHYTRYAFERK GGLFDQQPLRAASGLIERKAGLDTEKYGGYNKSTASYFLLVKYAEAG KKPKQDVMFVPIDLMESEQIIKSESYAKYYVRNAIAHIIGKSREIVQEVS FPLGMRKMKVNTLLTLDGFEAILASKSNGGKTLVFGSMMPLFVNNKK EIYIKRLESFSKKKKQNNFLFVDEVYDKITKEENRELFLFLTNKVEEEP YCLIFGSQLQVLHDKENEFENLNLEQQVETLLNLLSIFKTGRTTGCDL KLLGGAGQAGIFTESSKLSNWKKSYKDVRIVDISAAGLHRKTSQNLLE LL
MG6 효과기	11744	MG6-3 효과기	단백질	알려지지 않음	MKKVLGIDLGVASIGWGIIETDEKNENGRILKSGVRIFQGNEQRADAA PGESSNADRRNKRSVRRQRDRRTRRKINLYVTLKKNGLAPNKSEWDK WVSINPYTIRAKALDEKVSLHEFGRALYHLNQRRGYKSNRKAGSDKE GAVKEGISKVRNHMAKHNARTIGEYFHEIYDNHLQNDTEHDDFDWRI RDKYTHRKMFKEEFDALWDAQSVFHKELTNDLGEVLKKIIFHQRKM KSQSHLIGKCELETDKKRIAKAHLLFQEFRVLKNINNLSISDENGFPIKL TEGDRKLFKEIFDKKDKVSWSQLKTALINSGTIGNKNAVFNLERGGRK NIEGNRTNAALSHKKAFGEKWYELEDDFKKHVVDVLIHVDKPEIVKNL ALNKWDRTEEQAEYITHKLTLEQRYGGFSEKAIKKLLPYLKKGMEES SAIKKAGYSLFEQNPGKMNQLPMPDQTIKNPVVYHALIELRKVVNGIIR EYGMPDVIRVELARDLKAGYERRQKMTKKMRELEKKNDKAYKALQ KEPFNIQYPGYNDIIWFNLWEECDKTCPYTGKTIPAEAFNSGEFQIEHIL PFSRSLDNSYANKTLCEADFNRKKGNRTPWECVEAGIMEEDTMLQRIR NLPWNKRNKFTQKEIDEDKFLNRQLSDTRYISKEASSYLKHLSCERVE VVKGQTTSLLRHLWGLNGVLNKEGPDMKNRDDHRHHAIDAIVVAFTN RSTLKRLSDENKRIGTAEWMDADESGRATNDEIKRRLGGRIDLSEPWP TFRNDVEVSINNITVSHRVNRKVSGALHEETYYGPTDEPAPKNKEMMV LRKSVHQLSKKDLGLIRDETIRQIVNDEVQKRMDNGESQANAIASLEA DPPFIISPKAKVPIRKVRLLMKKDPQIMHYFENKNGEEDRAALYGNNH HIAIYETSDKNGVKKQIGIVIPMMEAARRVKDGDPIVMKDYRPDHTFL

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					YSLAKNDMIFNHEDEQIVRVQKINSDGTIMFRQNNVAMKGQSDPGVYF KSGSRLGASKIKISPIGEIFPAND
MG6 효과기	11745	MG6-5 효과기	단백질	알려지지 않음	MDSYTLGLDIGSNSIGWSLIKEDKNPTIIDIGVRVFPEGIDRDTKGAEISK NKTRRNARSSRRMHQRRSYRKSKLVKISREQGILPQEDKELDKLFLKD PYELRAKGIDEKISLFEFGRALFHLNQRRGFLSNRKSGKSKEDGVVTKS ASELQSTIKKTGCRTLGEYLNKLDSTEERRRSYYTFRSMYEEEFEKLW EKQKEFYPKILNDDLKKVIKDETIFFQRPIRWDRDTIRDCDLEPGEKVC PRSDWHARRFRILQDINNLEIYNTDGSSDKLSDERRKVLLEELLNKKD MTFGALRKKYGLFESQTFNLEEGSADKKKAKLKGDEFAAQMRSAKIL GKKGWEKLNESQRIEINDLIVDDDIEDNELVKILIDKYRFSQTQAEATL DISLPSKYSSFSKVALQKLLIYMEKGKLVHEAIQAVYGKPQAITNKGEI MDFLPMPEDLRNPIANRGLFEVRKLVNAIIREYGKPKKINIEMAREVK GSKRERDEIHLKQYKNERINEEARKTLIDDFKIPNPSRDDIIKYKLWVE CNKVCPYTGKSISQHQLFGPNPEFQIEHIIPYSRCLDDSYMNKTLCFVD ENKEKGNETPYEYYSEKIPKQYEQILQRIRTLPYPKRRRFSQQEVKLDN FIERQLNDTRYISREVVKYLKKLGVTVKGTRGQVTSELRHQWGLNNIL DLAGEGLKNRDDNRHHSIDAAVTAVIGNEHLRELARTKFRKNNKEFK QPWPDFREELEEKIKHINVSYRVQRKVSGALHEETSYGPTGRKDEKGQ DIFVYRKKLEDLTISMVNKIVDLVVRDIVKKRLVERGIDPEKDKKIPKE VWNEPLYMKTTKSDKKVQIRKVRIQDVFNNMIMLKDKKGKPCRAVA PGNNHHIEIFEYKDKKGGKKRDGRVTIMFDAVQRSQKRESVVKRDYG DGKEFVCSLATNEMFIMDNVDGNTELYRIQKITQSGNNKTIILRPHTYA GKLSDSDKPPLIQRKSPNTLKGHKVTVDMLGRFHMAND
MG7 효과기	11746	MG7-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MSNKTILGLDLGVSSIGWAIIERNDENGRIVKSGVRVIPSSKSELSVFKD FDKGKPASFSKERTEKRGIRRSYFRKKLRRAKLIEHLKENNMFDPELL GPKYSIDVWEWREKATKEKITLAQLGRVLLHINQKRGYKSNRKAIVD EESDSNWLNAINDNSKLLREKGITVGEYFYQEGKLHERKPKVKFALHF RMKVRIFNRKDYLDEIEQIWKKQSEFYPELTDELKESIIDHTIFYQRPL KSAKHLLSECRYEKMHKVIARSNPLFQLFRVLEKVNNLRAEDAFGNNR EITDEEKLKIIEACTSAQSWKLLDKKKNLSKSKIKSILGLGKDYEINLDS IEGSKTLHSIWEVLMKSWGEAGDWIDFDWSIQGNDFSKQKSYQLWHA LYSIDEPQYLRKKLCEGFGFDLDTARLLMNIRLESDYGALSARAIKRIIP ELLKFPKDATKAIENAGYKFTDSETKEERESRELKDRIEHLKKGALRN PVVEKVLNQLVTLVNAIYAHPELPNPDEIRVELARELKSGAKERRRAE LGMARAAKDNDRIRELLQTEFGIPYPGRRDILRYRFWEEQDMRCVYS GDVIPRNKLFVGEEYELDHIIPRARLFNDSNSNLVLVKSSENKDKSDMT AADYMKSKGEKAFEEYLVRVKNLYDKGAKKKAGERGSGINKGKRNF LIMKKEEIPQDFIERQLRESQYIVKEAVKLLKEVCRDVTTTGKITDLL KHQWGANDVFRNIQVPKYRKWGMTETIVDRKTGEVIERIIDWSKRKD

[0856]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					HRHHALDAIIVACTRQSYIQQLNRLNVLYENDYESLKSYRKFELPWPSF HNDLISSLESLLVSFRNKRRVATMNKNRIKVGGKKKYIVQKTLTPRDA FHLETTYGRRLVNNYKLVKLNKKFSMELAELVIDPDLKEKILNRLMEF GNDPQKAFANLKKNPFKWKNENLEEVLIYDEVFTTRKKLDEKFNNPSE IIDPEVREIVTQRLKEFDNNPKKAFADIENKPVWYNKDKQIRIKTVNTR AKASDLYPVRTKENGNPKDFVFTRNNHHITVYQKEDGKYYDKVTSFW EAFELKKAKMPIYKENDDAAKAVLHLKINDMVLVDLNPEDLDQNDPE FFNTLSEHLYRVQKLASGDVTFRHHLETELSNKNTEVRVTNAESLYNR VVMYPLDVLGLPK
MG71 효과기	11747	MG71-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MDNLILRREKMLVTKIKNTYPQISDDEIKAIKKLKYKDWGRLSATLLN SSTIAYEDKAFGELVTIISALRHTNKNFMELLSSYCSYDFIGKIKEFNGS RQSSNGKLTYKDVEELYVSPSAKRSIWQTLTILEEIKKIMGCEPKRIFIE MARSKEESKRTDSRLKKLQDLYKKCREENIDFMPRKDEFNALKTQLSS KKEEDLRSDKLYLYYTQMGRCMYTGERIELASLYDNNLYDIDHIYPRS KTKDDSLSNRVLVKKQVNAAKTDIYPLDAAIRTKMHSFWKLLYDKGFI DERKYERLTRSTQLRDEELAGFISRQLVETRQSTKAVAAILKTAYQNSE VVYVKAGNVSDFRQQFKFVKCRDVNDLHHAKDAYLNIVVGNCYHVKF TANPLNFITKNQDNRRYSLKPEIFYKFSIKRDGEIAWLGGEDGTMATV ARTMHKNNILFTRQPLEGKGELFKQNPLKAKSGQLPLKAGLSVEKYG GYDSLTTAYFALVKSEGKQGSVQLSIEGIPLVYAKQGEKAVQDYLTEV VQLCKPEIKIPKIKKYSLFKINGFPMHISGRTGKQLVFYGAGQLCIADD VADYLKKALKHETDIAEKEKTLADQNADDIQKQKAQKGLDFYEQKW GISGAVNVQLYDMFIAKSANNLYKNRPASQTITLKEKREHFVKLTLSK QIHIIKEILNLFKCASASADFKLIDKGTSCGTLKISNNITKLKECILINQSP TGVFEQEVDLMKL
MG99 효과기	11748	MG99-1 효과기	단백질	알려지지 않음	Same as SEQ ID 11716 above
MG112 효과기	11749	MG112-3 효과기	단백질	알려지지 않음	MGYNKVVLGLDVGVGSIGWGLVQLDEEKYADEKQDGTVEEKYKITD GKIIAAGVRRFQLPQDRQKKSLALIRGTARRSRRTIKRRARRLKRLIEL GKEFNLLGNDFDRDKFLIPKKGDKKEKWDTWRFRKEALERKLTDEEF FRVLYHIAKHRGAYFQTRAERLELEKDSKAAKDQGEKGEEKQDNEKK KEREKMKKGLKRIQELLKRSQYKTVGAMFYEMFKNGRKRNAPDKYS NSIRRELLHDEINEIFKAQRALGNEKADPDLEKQYLRAVLMQEKGPDD EKMQKMIGRCEIIKELCSQAGKECTADCPDLNRCRCAPKESYTAERFV LFNRLNSLKIIGGQAIDLAKHRDNIEKLAYTHDKIDFSQIRKELCLTDKP HLRFNLCSYSEKNPEYEKTLKYEVSNGQLQFGPEHRVQMDNFDTGET KVFDKEIRAIFQKRLATTPNYKKINVRYSDIRKELQGPQVDLAGFKFTA LKKEYTKSSAQLESEFFTKPKNKGKNFNGDAAYIKQFEDDAIFVELKG YHKIRKVLENRDGTWEKLKSDGTRIDTIAEALTYCKKDETRTAYLKER

[0857]

[0858]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					GITDESVIDAALTLNMEKIATYSKEAMVKLLEHMEKGLLVNDAKARC GYDKFEHKKQAYLAPYSGFFENNPVVARVIAQTRKVVNAIVRKYGEQ YPIDQIHIEVATELANSEKTRKRIKDAQDKNKDEKSRARSICEEFGINSD EGQNLTMVRLLDEQGHFCPYTGKAIVLRSTGAANEVHINDCEIDHIIP MSRSFNDGMNNKILCCAKANQDKRNRIPFEWFEETHGPNSQQWFEFT RRVEKMYDVPYSKKKNLLRKSWTDEEMKKFMDRNLNDTRYATRHIA DYLRKYFDFSNRRDDIKDVSRIKLRSGGVTAFLRYLCGLNKNRDENDL HHATDALITACATDGHVFLVSNLSKQIEEKGKNWYKHFGMEKFKPLR PWETVREDILEATQKIFVSRMPRHKVTSAAHEDEVWSFDEKKRTKKA QKKKKSSIPKDTARVMKINNGYAKIGEIVRADVFEDGKHKNYVVPIYA VDIFSKKPLPDKYLKKNNTPYDEWPSAAADNLTFKFSLFKDDLITINGT PYYVDFVEGTQANIKVRNINGSKFESTNEKTRKFGYRNIELKKFSVDM LGNYKEVKEEKRLGNEGVKWTKKRPKK*
MG123 효과기	11750	MG123-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MRILGLDLGIASCGWALIDQAKDGEEGRILALGVRCFDAPEDSKDRTP NNQARRQHRGLRRVLRRRRQRMQELRHLFLAHGLLASAGPDALALP GIDPWAMRAEALDRALAPCELAVALGHIARHRGFRSNRNQRSNEAED RTMLAAIAARQERTGHYRTIGEAFARDPEFARRKRNRDGDYGRSILRE EHEREVRLIFARQRALGSQCATEALEQAFTDIAFFQRPLAASEDRVGPC PFEPGERRSARFAPSFELFRFLARLTTLRIGTRREERALTAEEIARAEQG FGTQQGMTFKRLRKLLNLAEAEGFIGISPEDEGRDVVNRSPGNGCMR GSAALRQAIGEGAWLRLLSTPERLDAIAFVLSFAAAKEFPERLAALGIE EDVIAAVLAGVEQGMFDHFAGAGHISAKACRKIIPGLRRGLVYSEACQ EAGYDHARRPETSLSDVANPVARKAIGETLKQVRAIVAEYGLPERIHIE LARDVGKSAEERAEIARGIEKRNRERDRLRRIFVETVGREPAGSEDML RFELWLEQAGRCLYTDHCIPPDAIVAADNRVQVDHILPWSRFGDDSFA NKTLCFATANQEKRGRTPFEWLGADQERWNRFVAVVEGCKGMKGR KKRIYLLKDAVSSEEKFRTRNLNDTRYAARIVLEHLAHFYPEDGSRRVF ARPGALTDRLRRGWGLQDLKKKLEPDGEKRHEDDRHHALDALIVAA TSESALQRLTRAFQEAETRGSHRDFSALTSPWPGFVDQAQEAFKTILVS RAERGRARGEAHEATIRQVRKDEDGPVVYERKSVEALTEKDLARVKD PERNAALIESLRAWIAAGKPKASPPLSPKGDPIAKVRLRTDKKPAIEVR GGVAERGEMVRVDVFRARNRHGRWEFYLVPIYPHQVADKVRWPTPP DRAVQGNTPEEQWPVMDAGYEFLFSLHQRSFIEVEKRDRTVITGYFM GLDRHTGSIAISTPHSTKALARGIGARTLMRFEKFRVDRLGRTFAVRQ ETRTWHGVPCT*
MG124 효과기	11751	MG124-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MTLTLGLDIGTNSIGHALVETDEQGNVISLKHIGVRIFSDSRTDKEKKP LNEARRTARQARRQRERKKSRMKAVLRVLREHGLDPQDSLLESPYAA RAAALTGPLSRSQVGRAIWHIAKHRGPRLVRKDDKEQGVIKEGIRSLE TEMLAQKARTYGELLERIRLNGGSVRLRANSEGSYNRYPSRQVMEAEF

[0859]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					NHLWESQVPHHPEVMTEALRERLITAIFYQRPLKPVYPGRCTLEPDEY RMPKAMPMAHEFRIRSEVANLTLKQGDEVRTLTANERQIVVDGLLNS EKLTFTAIAKLLGFRAGVKFNLEGDDGDGGKARNYLIGDLTSSKIRSV WPNFSKMPENMRLSLILALLDDIDDELELKCKLRSDFGISPEVVDQLSSL MLPAGYINLSQKAVRAVLPYLQQGMGYAQACAAAGYHHSDHRPEEL TPILPFYNELPGMKRYLGQEQKGKPGRISNPTVHVALNQVRKVYNTLV EVFGVPDCVNIEVTRELKQTAKQKIAANKQNAANKKVRDAFKEKFPE RANSDQDLVRWRLWNELPEERKVCVYSGKEITLNDLFSPRVEIDHIIPH SISFDNSPSNLVLCAQGANRLKTNKTPHEAFAPGLHKEFNWSAIEQRVF ELAADKCGTWAKKKLRFKPDYLDVGGDFATRQLNDTAYLSKVVRIYL GHSCPKVLAVRGAVTAICRKEWGLDRLLRDTVSDHADLFCLSSVKSTG VFMAPHHVTGGSHDIREDCSVNKLLKFGAEVVRVDPIGRFQTPGEIRRI EPRGPKVNFQNLRTTTRKPLTSLTANSISQIKDDGLRTKITAHIKEVNP KLLTDTLNREAKVELSRLLGEFGQKHSVGRVRIVANKSGVIVRHGAAN QHTKVLIADTNHHGDVVVRDGKVKMLLTTYAELNHPPEVEAGWTLK MRLHKGDMIRVPGYVYNKYPKKPNYGKDRSDHRHHAVDAFVIACITP SLLRKISRSIALSKYNQLHEFPEPYERFKQELKTHLRKLVVSNKLDHSIS APIFTETNYGFTA*
MG125 효과기	11752	MG125-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MRPYGIGLDIGISSVGWAAIALDHQDSPCGILDMGARIFDAAENPKDGA SLAAPRREKRSQRRRLRRHRHRNERIRRMLLKEGLLSEAELTGLFDGA LEDIYALRTRALDEALTKQEFARVLLHLSQRRGFRSNRRATAAQEDGK LLDAVSENAKRMADCGYRTVGEMLYRDAVFAKHKRNKGGEYLTTVS RAMIEDEVKLVFASQRRLGSAFASEALEQGYLDILLSQRSFDEGPGGNS PYGGAQIERMIGKCTFYPEEPRAARACYSFEYFSLLQKVNHIRLQKDG ESTPLTSEQRLQLIELAHKTENLDYARIRRALQIPDAYRFNTVSYRIESD PAAAEKKKEKFQYLRAYHTMRKAIDGASKGRFALLSQEQRDQIGTVLT LYKSQERISEKLTEAGIEPCDIAALESVSGFSKTGHISLRACKELIPYLEQ GMNYNEACAAAGIEFHGHSGTERTVVLHPTPDDLADITSPVVRRAVAQ TVKVINAVIRRYGSPVFVNIELARELAKDFTERKKLEKDNKTNRAENE RLMRRIREEYGKMNPTGLDLVKLRLYEEQAGVCPYSQKQMSLQRLFE PNYAEVDHIIPYSISFDDSRRNKVLVLAEENRNKGNRLPLQYLTGERRD NFIVWVNSSVRDYRKKQKLLKPTVTDEDKQQFKERNLQDTKTMSRFL MNYINDHLQFGVSAKERKKRVTAVNGIVTSYLRKRWGITKIRGDGDL HHAVDALVIACATDGMIRQITRYAQYRECRYMQTDTGSAAIDEATGEV LRIFPYPWEHFRKELEARLSSDPARAVNALRLPFYLDSGEPLPKPLFVS RMPRRKVSGAAHKDTVKSPKAMAEGKVIVRRALTDLKLKNGEIENYF DPGSDRLLYDALKARLAAFGGDGAKAFREPFYKPRHDGTPGPLVKKV KLCEPTTLNVAVHGGKGVADNDSMVRIDVFRVEGDGYYFVPIYIADTL KPVLPNKACVAFKPYSEWRTMDDRDFIFSLYPNDLIRVTHKSALKLSR

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					VSKESTLPESIESKTALLYYVSAGISGAAVSCRNHDNSYEIKSMGIKTLE KLEKYTVDVLGEYHKVEKERRMPFTGKRS*
MG125 효과기	11753	MG125-2 효과기	단백질	알려지지 않음	MLSYAIGLDIGISSVGWATVALDGEDRPSGIIGMGSRIFDAAEQPKTGD SLAAPRREARSARRRLRRRRHRKERIRALILREGLLNETQLAALFDGQ LEDIYALRVRALDEAITAEALARIMLHLSQRRGFLSNRKTAASKEDGEL LAAVSANRARMQAHGYHTVGEMLLKDESYREHRRNKGGAYISTVGR DMIVEEVRQIFAAQRTFGNVAASEALEANYLEILLSQRSFDAGPGEPSP YAGSQIENMVGKCTLEPDESRAARATYSFEYFALLEAVNHIRLTGAGV SAPLTAEQRERLIALAHKTADLSYAKIRKELNIPAEQRFNAVSYGKSDS PDEAEKKTKLKQLKAYHQMRGAFEKASKGSFVLLTKEQRNAIGQTLS IYKTGDNIRRSLRDAGLSEEQIAIVEGLSFSGFGHLSVKACDKLIPCLEQ GMNYNDACAAAGYAFRAHEGQEKKKLLPPLNAEAKDTITSPVVLRAV SQTIKVVNAIIRERGGSPTFINIELAREMAKDFSERTQIKHEHDENRKQN ERLMERIKNEYGKSAPTGLDLVKLKLYEEQAGVCAYSLRQMSLEHLF DPNYAEIDHIIPYSISFDDGYKNKVLVLAKENRDKGNRLPLEYLNGKRR EDFIVWVNSAVRDWKKKQRLLKEHITQEDEAKFKERNLQDTKTASRF LLNYIADNLAFAPFQTERKKHVTAVNGSVTAYLRKRWGITKTRANGD LHHAVDALVIACTTDGLIQKVSRYAQYQENRYSADGGLVVDLHTGEV VAQFPEPWAHFRQELDARLSDDPARAVRGLGLAHYATGEIRPRPLFVS RMPRRKITGAAHKETIKSPRALDEGLLITKTPLDALKLDKDSEIAGYYK PESDRLLYEALKERLRQFGGDGKKAFAEPFRKPKHDGTPGPLVTKVK LCEPTTLSVAVHGGLGAANNDSMVRIDVFHVEGDGYYFVPIYIADTLK PELPNKACVAGKKPSEWKRMNPNDFVFSLFPNDLIYVSHRKGICLSLV NKESTLPASREEKCTFLYLVKGKSSTASLECRNHDNTYHIKSLGIKTLE KIEKYTVDVLGEVHKIEKEPRMPFTNMEG*
MG125 효과기	11754	MG125-3 효과기	단백질	알려지지 않음	MYPYAIGFDIGITSVGWAVVALDGEDKPFGIINMGSRIFDAAEQSKTGA SLAAPRREARSMRRRLRRHRHRLERIRHLLVAENVISQAELDALFEGK LEDIYTLRVKALDTAVSHADFARILLHIAQRRGFKSNRKSSTSKEDGEL LAAVSANRALMAEKGYRTVGEMLLKDPQYSGSKRNKGGKYLATVGR DMVEEEVRAIFKAQREQGQAFAATELEEQYLEILLSQRSFDEGPGEGS PYRGSQIEKMIGKCTLEAGEPRAAKASYSFEYFTLLQNINHLRLICGGE SRPLSDAQREFLIALAHKTKDLNFSRIRKELDIPADTTFNAVSYKSADGY EDAEKKAKFCYLKAYHQMKAAFNKLSKGHFDSLARQQKNELGRVLS TYKTSANIRPRLAAAGLSEMEIDIAETMSFSKFGHISVKACDKLIPFLEK GLKYNDACAAAGYDFKGYDSETRTRLLHPTEDDFADVTSPVVRRAISQ TAKVLNAIIRERGNSPTFINIELAREMARDFTERSKMKKDMDENHARN ERIMERIRTEYGKEHPTGQDLVKFKLWEEQHGECAYSQKHLSLKHLF DPDYAEVDHIIPYSISFDDGYKNKVLVLAEENRNKGNRLPLLYLQGERR ADFIVWVENSIHDYRKKQRLLKETITAEDEKGFKERNLQDTKTMSRFL

[0860]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					LNYISDHLEFSDFSTGRKKHVTAVNGAITSYLRKRWGIAKIRENGDLH HAVDALVVVCTTDGMIQQLSRYSTLRECEYVQTEAGSIAVSMHTGEVL KRFPYPWPEFRRELEARLGDDPRRAVISQRFPVYANGDIPVRKLFVSR MPRRKVTGAAHKETIKSPKALNDGIVVVKRALTDLKLDPKTGEISNYY MPQSDRLLYEALKEALKKHGGDAAKAFAAPFHKPKSDGTPGPVVNKV KLCEPTTLNVAVLNGAGVADNDSMVRIDVFRVENDGYYFVPIYIADTL KAELPNKACTRGKPYAEWREMDAEDFLFSLYPNDLIRVTSQKGLTLSK AQKESTLPDTYETKQEMLYYTSASINTAAVACRTHDNSYEIKSMGIKTL EKLEKFTVDVLGEYHKVEKEPRMAFCRK*
MG125 효과기	11755	MG125-4 효과기	단백질	알려지지 않음	MRSYAIGLDIGITSVGWATLALDGNENPCGIIGMGARIFDAAEQPKTGE SLAAPRRAARSSRRRLRRHRHRNERIKNLMVSKGVLSSDELETLFDGR LEDIYALRVKALDGKVSRSEFARILLHLSQRRGFRSNRKNPSSKEDGAL LKAVSENAERMEKHGYRTVGEMLLCDEAFKQHKRNKGGNYLTTVTR DMVADEARAIFAAQRSFGSEYASEEFENEYLEILLSQRSFDEGPGGNSP YGGSQIERMIGRCTFFPEERRAARATYSFEYFSLLQKVNHIRIVTNGAA ERLTAEQRNTVIELAHTTKDLSYAKIRKALKLSDGQLFNIRYSDKASAE DTEKKEKLGVMKAYHQMRSAFEKQSKGRFDFVTTPQRNDIGTALSLY KTSDKIREYLKDSGFDEIDMDAVESIGSFSKFGHISVKACDMLIPFLERG MNYNEACAAAGLNFKAHDTGEKTRFLHPTEDDYEDITSPVVRRAISQT VKVINAIIRKEGGSPTFINIELAREMAKDFTERNKLKKENDENRAKNEK LLERIRTEYGKSDPSGLDLVKLRLYEEQGGVCMYSLRQMSLEKLFSPN YAEVDHIVPYSKSFDDSRKNKVLVLTEENRNKGNRLPLQYLTGQRRDD FIVWVNNNVRDYRKRRLLLKETLTDEDELGFKERNLQDTKTMSRFLL NYISDNLEFAESTCGRKKKVTAVNGAVTAYMRKRWGITKIREDGDLH HAVDAVVIACTTDGMIQRVSKYARLRECRYMPTEEGSLVIDDGTGEVL HQFPYPWRDFRKELEARIGTDPARTINDLRLPFYMSSGMPLPEPIFVSR MPKRKVTGAAHKDTVKSPKELDKGCVVVKRPLTDLKLKDGKIENYY NPQSDRLLYDALKKALIEHGGDANKAFAGEFHKPKSDGTPGPIVSKVK LLEPTTLNVPVHGGAGVADNDSMVRVDVFLTKGKYNLVPIYVADTLK PELPNKAIAAHKPYSEWPEMSDDDFIFSLYPNDLVCVTHKKGIKLTVTN KNSTLPPTVEGKSFMLYYISTNISGGSIKGITHDNTYEIGGLGAKTLEKL EKYTVDVLGEYHKVGKEVRQPFNIKRR*
MG125 효과기	11756	MG125-5 효과기	단백질	알려지지 않음	MRPYAIGLDIGITSVGWAALALDADENPCGIIDLGSRIFYAAEHPQTGE SLAAPRREARGSRRRLRRHRHRNERIRSLMLEERLISQDELETLFDGRL EDIYALRVKALDEIVSRTDFARILLHISQRRGFKSNRKNPTTKEDGILLA AVNENKQRMSEHGYRTVGEMFLLDETFKDHKRNKGGNYITTVARDM VADEVRAIFSAQRELGASFASEEFEERYLEILLSQRSFDEGPGGNSPYGG SQIERMVGRCTFFPDEPRAAKATYSFEYFTLLQKVNHIRIVENGVSSKL TDEQRRIIIELAHTTKDVSYTKIRKALKLSDKQLFNIRYTDNLPAEDSEK

[0861]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					KEKLGLMKAYHQMRSAIDRISKGRFAMMPRAQRNAIGTALSLYKTSD KIRKYLTDAGLDEIDINSADSIGSFSRFGHISVKACDMLIPFLEQGMNYN EACAAAGLNFKGHDAGEKSKLLHPKEEDYEDITSPVVRRAIAQTIKVIN AIIRKEGSSPTFINIELAREMAKDFRERNRIKKENDDNRAKNERLLERIR TEYGKNNPTGLDLVKLRLYEEQSGVCMYSLKQMSLEKLFEPNYAEVD HIVPYSISFDDSRKNKVLVLTEENRNKGNRLPLQYLKGRRREDFIVWV NNNVKDYRKRRLLLKEELTAEDESGFKERNLQDTKTMSRFLLNYIADN LEFAESTRGRKKKVTAVNGAVTAYMRKRWGITKIREDGDCHHAVDA VVIACTTDAMIRQVSRYARFRECEYMQTESGSVAVDTGTGEVLRTFPY PWPDFRKELEARLANDPAKVINDLHLPFYMSAGRPLPEPVFVSRMPRR KVTGAAHKDTIKSARELDNGYLIVKRPLTNLKLKNGEIENYYNPQSDK CLYDALKNALIEHGGDAKKAFADEFRKPKSDGTPGPIVNKVKLLESAT MCVPVHGGKGAAYNDSMVRVDVFLSGGKYYLVPIYVADTLKPELPNK AVTRGKKYSEWLEMADENFIFSLYPNDLICATSKNGITLSVCRKDSTLP PTVENKSFMLYYRGTDISTGSISCITHDNAYKLRGLGVKTLEKLEKYTV DVLGEYHKVGKEVRQPFNIKRRKACPSEML*
MG3 효과기	11757	MG3-18 효과기	단백질	알려지지 않음	MSTDMKNYRIGVDVGDRSVGLAAIEFDDDGLPIQKLALVTFRHDGGLD PTKNKTPMSRKETRGIARRTMRMNRERKRRLRNLDNVLENLGYSVPE GPEPETYEAWTSRALLASIKLASADELNEHLVRAVRHMARHRGWANP WWSLDQLEKASQEPSETFEIILARARELFGEKVPANPTLGMLGALAAN NEVLLRPRDEKKRKTGYVRGTPLMFAQVRQGDQLAELRRICEVQGIE DQYEALRLGVFDHKHPYVPKERVGKDPLNPSTNRTIRASLEFQEFRILD SVANLRVRIGSRAKRELTEAEYDAAVEFLMDYADKEQPSWADVAEKIG VPGNRLVAPVLEDVQQKTAPYDRSSAAFEKAMGKKTEARQWWESTD DDQLRSLLIAFLVDATNDTEEAAAEAGLSELYKSWPAEEREALSNIDFE KGRVAYSQETLSKLSEYMHEYRVGLHEARKAVFGVDDTWRPPLDKLE EPTGQPAVDRVLTILRRFVLDCERQWGRPRAITVEHTRTGLMGPTQR QKILNEQKKNRADNERIRDELRESGVDNPSRAEVRRHLIVQEQECQCL YCGTMITTTTSELDHIVPRAGGGSSRRENLAAVCRACNAKKKRELFYA WAGPVKSQETIERVRQLKAFKDSKKAKMFKNQIRRLNQTEADEPIDER SLASTSYAAVAVRERLEQHFNEGLALDDKSRVVLDVYAGAVTRESRRA GGIDERILLRGERDKNRFDVRHHAVDAAVMTLLNRSVALTLEQRSQLR RTFYEQGLDKLDRDQLHPGEDWRNFTGLYPASQKKFLEWKDAATAL GNVLAEAIEDDSIAVVSPLRLRPQNGSVHDETIDPVKKQTLGSDWPADA VKRIVDPEIYLAMKDALGKLKELPEDSARSLELPDGRFVEADDEVLFFP ENAASILTPRGVAEIGGSIHHARLYGWLTKKGELKVGMLRVYGAEFP WLMRESGSRNVLSMPIHRGSQSFRDMQDTTRKAVESGEAVEFAWITQ NDELEFDPDDYIAHGGKDELRQFLGFMPECRWRVDGFKKNYQIRIRPA

[0862]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					MLSREQLPSDIQRRLESKTLTKNESLLLKALDTGLVVAIGGLLPLETLK VIRRNNLGFPRWRGNGNLPTSFEVRSSALRALGVEG
MG3 효과기	11758	MG3-89 효과기	단백질	알려지지 않음	MSAPLNYRLGFDVGERSVGFAAVEYDDQGYPLKFLAIGSYLHDGGMD PTTNKNPKSRKETRGVARRTMRMRRQKIKRLKKTDKVLRELGYQVS HYTDEPQTYEAWYSRRLLATQKLSSEELNDHMVRAVRHMARHRGWR NPWWSLTQLESASAEPSETFVQMFEKAQERWADELILPIEETTLGMLG ALSDDNKVLLRPRTYDSKKEKHKEKLNVKGEEPVFFAKVRQEDILREL RIICVRQGVESQYEELRKALFDQIRPHVPQENVGRDPLDPSQYRALRAS LEFQRYRILDALANLGVREGRGKPRSLTGEERTQAWKFLSTYRDQKN APTWGDVAEAMGVEPALLVAPVIDEVRLNKAPYFSSLVAVEKKLKKK HQIYKWWVEASVESRGLLIRVLADATNATLDEASEAGLLELIEGLPEE EREVLDGLSFETGRAAYSADTLTKLADYMEEHLAEGIGVHEARKAVF GVDDSWQPPKATLEEATGQPTVDRVLTIVRRVVLSAQRQWGDPAEIM VEYARTGLMGPAQLAEVKREIAKNRKERDRIRQDLKDGGVSEPKKRH IMAHRIVQDQNCQCMYCGAMITAASCELDHIVPRAAGGSSRRENLAG VCRDCNASKGGRMFADWAADNPRGVSLKDTLGRLRSWEPFKKADKK RLLKLIERRLKQSVMSPEQIDERSLAPTAYAATAIRERLRRHFEDDAKP IPRKDVVKAYAGGLTRESRRAGLIDEKLLLRGSRDKSRLDVRHHAIDA AVLTMLNVPVARTLEERRLMKRERDLSARDNDWRDYTGTAEDKPKF VQWKQAAGEMADLLIDAVDQDSIAVTNPLRLRPQNGAVHDDTIRPLEE RALGAEWDPATIKRVVDPSIYLALVDALGKSKSLPADSQRELVLDDGT LMSADDSIALFSTNAASILTPRGAAEIGGSVHHVRLYAWRDRKGEIEVG MQRVFGAEFPWLMRESGVKDVFKVPVHRGSQSYRDLQDGVRKQIESG AAVEIGWITQGDEIQLNLDEVRDSMRSKELLTFLEIFPETRWRVDGLPD NRRLRMRPVLLASEGIEEFLKNAPEDIQTIVVNFFKNGALLSVSKVLAL TETKIIRYNHLGFPRWRGVGRPVSLDIQRAAREALEGKK
MG3 효과기	11759	MG3-90 효과기	단백질	알려지지 않음	MSQEATKYRIGIDVGDRSVGLAAFEFDDAGFPLRKLAMVTYRHDGGL DPTQNKSPKSRKETAGVARRVRRLRKRRKERLKKLDLKLLELGYPLP EGEEAQTYQAWKSRALLTSQKIEDKAEQAEHLVRALRHMARHRGWR NPWWQFGQLDSAPVPSETMVENLNHARLLWPGYITDQTTVGELGALA ASPDILLRPRTRDIKKKPNGLHHQEGVRAVLGSKVRQEDLLAEVKKIW QVQELPVSHYEELARALFEQVRPYVPAQNVGRDPLPGRHHLPRAPRAS LEFTEFRIRQAVANLRVREGREKVPLTSGQHIAAVNYLMNYADKQPPT WGDVAEQIGVEPTRLVAPVIDDVRLNKAPVNHSTSVFTRALPKKSEAM QWWNSADVSLRSLLIIFLSDPTEEATAAADESGLSAIFESWPEKEREKL EGLDFESGRAAYSIQSLIDLNQYMEEHQSDLHTARKEVFGVDDSWQPP RENLHEPTGQPAVDRVLTIVRRFVMACERKWGKPDRIVIEHARTALM GPTQRHEVLREIQRNRDANERIREELRADGLTSPTRADVRRHRVVQNQ DCKCLYCGTMITTATAELDHIVPRAGGGSSKIDNLVAVCRGCNADKGR

[0863]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					IPFAVWAEQTSREGVSLDDALNRLWSFDKVVYKGVAGRKLKAQIARR LRQAEEDEPIDERSLESTAYSAVAIRHRLETYFNTSRGLNRGDDGFTFID VYAGALTREARRAGGIDEQILLRGQRDKNRFDVRHHAVDAAVMTVLD HSVARTLAQRNLIYREDRLKRRENQDDTRWREFTGLGGEAQEKFLVW KQKSYVLADLLAEAIAEDSIPVINPLRLTPRNGSVHKDTLSSLDKMYLG GSWSSKDIARVVDPDIYLALMELLGRATTLDEDPQRSLTVKGKVLQAD QEIKLFPESAASILAGTGAVKIGDSLHHARLYAWPTKKGHEIGMLRVF GAEFPWLFKTYGTKNALTVPIHPGSQSYRDMKDTLRKKIESGEAREIG WITQGDEIEIKIESYLQENDELGRFINLIPENRWKIDGFNDNGRLRLRPI LLSYEEIPESYGEDVLGAKNHQLIRKVLERGAIITAGKILGAEGTKVLR RNHLGAPVWQGQQEARSLDISRAITEKLEG
MG3 효과기	11760	MG3-91 효과기	단백질	알려지지 않음	MSMISTNDDRVEGMHMARYGERKYRVGIDVGDRSVGLAFIEFDEQDM PSELLRMFTVRHDGGIDPTTNKTPKSRKETAGVARRVRKMRKRRTKR LQELDALLMASGFPIVDVSVGETYECWQARAAAVEGFITDEQTRLETV SRAIRHMARHRGWRNPWLTWQGFRELEVPTANHRKNIESANSKLHLD LEDTSTLGQIAASASASNWMLRPRNGQKRKEASNPVLVAQVQQADQL AELYKILEVQRIDSTITEKIARAVFDQVRPYVPKGNIGLDELPGMGAYY RASKASLAFQEFRVRAAVANLRVKNSPRGQERLRLDPQDAQAVAEYL LTWREDQPPQWGDVANALSIDENLLVIPVFEDAFLKLAPYDRTSSDLE QRLSSSANKKKLAGVREWWDSADTQMRELFIEFITSPNESVYEEADES GFSDVFNGWSDEAKEVLLGMQFESGRSAYSVESLRRLNLRLRTGEVDL HEARRLEFGVDDTWRPSLPSIDERTGQPAVDRVLTIVRRAIMGAVDKW GVPEAVVVEHARSGFMGASARNDYLNEVSRRTATRAKLREIVKQQGV ERPSDGDIHKWECINRQRCTCAYCGNEITFTTAEMDHIVPRAGGGSNV RENLVAVCRRCNSEKRNIPFAIFAESDAHPYTSLNETLTRVRNWDWSR DRSEQRLKNRMLQRLKRRESDPEIDERSLASTAYAAVEVRQRIAEYLG RITGEDELNRVQVYTGGATREARRAGKIDARIRIRGKDEKDRFDVRHH AIDAAVMATLNHSVAFTLRERAEMKRSATMNRYLDPNEEWKDYSGRT SSAQKRFTVWRQQAHRLADLIVDAVEADSVPVAQQLRLSASRGSVHK DTVSALVRKQLGAPWTAQEILQIVDPEIYVHLRDLAAQNKGVLELDPS RRIQLLSGVWISGSELVEVFPKAAASMKVSSGSVEIGEQIHHARVYAW RGTKGEFQYGILRVFTAELPWLQRQAQSKDLFTMNIDDRSMSYRDLL QTVRKKIESDEARCIGWLTQNDELVLNVEVLRQGSDKIAHFLSTYPESR WKLDGFPENRRFRIRPLYLSREGSDHLDPICAEILEKGAIVGTSNLLSNV HQIIRRDSLGFERWRSQGGLPASWSVPDSTADTVETGLK
MG3 효과기	11761	MG3-92 효과기	단백질	알려지지 않음	MAQRRYRVGIDVGDRSVGAALVAFDDDGIPERVLHAVSYRHDGGIDPT TNKTPQSRKHTAGVARRVRRMRARRTKRLAALDRALIELGLPVRDVS DGETYEPWRMRARCVEGFIEDDAERRDAVSRALRHIARHRGWRNPW HSVRRERLESVPTATHQKNVAAAQAVFPGEIAADATVGQLGEVASRFN

[0864]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					HMIRPRTGKKNPKQKTAVLNERVMQADQMAEVVAIWTTQRMPEAEL NAVLELVFGQERPVVKAENIGRDELPGMGHLPRAPKASFEFQEFRIRA TAATIGVRARQGSSKAERLDADAVDAVSHWLLEWDADDDPTWADVA VEALNLDPRFIKAPVFDDVRRMTAPVNRTARILRKALKKRHNAPVRT WWESASAESRAALVAFLVDPTDENEDLLDRTGLSDVVAAWPEEVLDD LTNLNYEVGRAAYSRESLSKMNTIMAEQRVGLHDARKIAFGVDDTWA PALPQLSEPTGQPTVDRVLPIVRRIVMAAYERYGVPEAVYIEHARSALL GPAARAEHQREVNANRREREKNRQILIEQGIDDPNRSDIRRWHQVQLQ NCLCLYCGQTISAAAGGAELDHVVPRAGGGSNRRENLVAVCRQCNSE KGKLPFAVFAARTQREGVSVEAALERVRGFQWRPADRAVKRGLVHR LKQTAADDPIDERSLESTAYSAVEVRRRLERFYSDHASPEAPRPEIFVFG GSITSEARKAGGIDAIIRLRGKDVKDRFDARHHAVDAAVMTLVDRSVA RTLQQRSDMRYAHRLTGSEPAWREHAGDSAAAQSRFAEWKKKSYRL AELLREAISADAIPVIFPLRLGVNRGSVHKDTVRAAVPKRLGDAWSAAE LDAVVSPAAHMALSSVFDGAAELPHDDGRMLTVRKRRLHADDTISLLP GHAAAIEVNGGVVEIGESIHHARLVAWRDRKGVIQFGMVRVFTAEIPF MQRLAGKKDVFSIPVHPSTLSYRGVQLRVRKALDAGIAVELGWITQGD EIEIGLDDVASMTPEFRQFIAEIPEQRWRVDGFKDGGRLRVRPALLSAE GDAAVSDLVSKTLDKGSFVNAAGFIGAPSSVVIRRSALGVPRWRSAQG HLPVSFSPYQRAENLL*
MG3 효과기	11762	MG3-93 효과기	단백질	알려지지 않음	MNEGVIQYRIGIDVGQNGVGLAAIAFEAGNPSEVLAMVTHRHDAGLDP AAAKQGYSRKKTSGVARRTRRLRRNRARRLKKLDEILTSLGLEVPAH EVPQTWEAWEARAELQEFPIDNEQELHEKLVLAVRHMARHRGWKNP WWSWNTLWEAPTPTSNMNEIRDNARKVFADLPPTATIGQIGFVAAAT NRLLRPRKDTTKAKTKRPTPVLNAKVMQEDQLAELRSYWDKQNLPD EWLEKIAKAVFYQTRPKVKPELVGHDDLPGMTKLPRASRSSLEFQEFR IRAAIANLKVKVPGSRQENFLSVGDKNRIVDLLMGWDDDEAPTWADV AEELNISVRDLKRPEFDDSPLRVAPYDRSSNAIRNKLVSLRKDGKEALE WWDTADRDQRSLFATWLGDQSQHDDAFLETSGLSDIIASWSEGVMEK IDSLSLEPGRAAYSIESLKILNRHLAEGDNLHEARKHGFNVDDSWTPSL PRFEDRTGQPVVDRVIRIVHRFINGCVYKWGVPESIVIEHVRSGLLGPE ALLDYKRETTRHRNEREQIARDLKDQGISERPSSGDITRMRIVQEQQG VCLYCGTAINHCELDHIVPRAGGGSNFRENLAAVCRECNRLKGKTPF ARWARETSQEGVSLEGALDRVKNFSVNGSTADLRNLKRRVSQRLRQT DEDQPIDERSMASTAYAALEVRDRVREFTSRFTDTDIPVEVYRGSITSAA RKAGHIDKLILLRDKDIKDRGDFRHHAIDAAVMTVINRSNSQVFAIREA MRSAHAMTGSEPNWKDFRGNSPRQEEKFIEFETRAAHLARIIRERIDA DRIPVISPLRLKPETGKVHADTIVPFDYKALESEWTDKDIVRVVDNELY LALVDALGGKKVLPTDKISVIDQDLAKDHRQVALYGTPSPQIPVRGGS

[0865]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					AAISDSLHHFRVYAWKDKKGAIQFGQQRVFGAEFRAMWGDPRQVDV FTAPVPRWAFAHREMPPKVKAAIEAGNAKQIGWYTRNDEIELDLSEL MAQSNVLGEFLRELPEKSWRIRGSHSLSRLSLSPLYLSSEGTDLSEQSRP VQDAVSKGIPVSASSILDSESMIIRRGPLGIPKWNGGNATSYSFRQVAEE VLGTD
MG3 효과기	11763	MG3-95 효과기	단백질	알려지지 않음	MTNHSPAGSISSTDWVLGVDLGQRSVGLAAVALDPDGTPTEILASNVV RIDGGLLPGSEESPVSRKAAAGMARRVRRLHRRRRARLKALDRRLMD LGFPVDDGPETYESWLDRARLVEGRIANETERKRATSRAVRHIARHRG WRNPWLSWSAFAELSTPSDNHRRNLAAAAERFDRETEGWTVGQLGA AGTDPRITIRPRTAKDSRRIVHGEAALLEHRVLQEDQLAELRQIWTTQ EWDPAELPELEKAVFTQAEPFVPPGNVGRDALPGMQTHPRAPRASLEF QRFRIQSVVGNLRVPVTERSGDLRPLTPEERERVTGLLERWHEREGHV PGERPTWRDVAEAVGVSLRNLRGRDTSDYATATPPTMETLDRLKAGI AALKPAAVRRDVAAWFDEAEDDQISAFVSYLADSTDASNEALDEAGLT DIITGWDEAALEKLGDLPLEPGRAAYSLESLNRLTGRMQADAVDLQEA RKREFGVDDSWTPPTPSIETPTGMPAVDRNLVAVRRFVMSMVSQFGM PQLVVIEHVRESFLGVTAVEELRRQQRLDRRRRETAAKEVAAASGKEP RAADVRRYSLIQRQNGQCAYCGTAIGLRNSELDHIVPRAVGGASTRAN LLAVCRACNNLKGKQPFAVWAAADTRTDEDGEKLVSVEAALARTRS WMAPRPSIRERNELREIRQRLRQRESDEPIDERSMESTAYAATALVERV QNYLESQTPEGVQTPPVRVYRGSITASARKSSGVDKVIRLRGKSMKHR GDFRHHAIDAAVCALITPSVARTLAIRESLRTAHRFTGDEHDWKSFTG DSPQARAEHTAWTARMQTLAKLLRDAVDADQVPVSIPLRLGRRVGRV HEDKVRPFDSRPLGGTWSAKELERIVDRRLYTALHHVAASATSGVEVT PELCTELGSSMGATVKLYGSPAAQIPVRGGSARLGAIHHARLYAWRGT RGIEFGMMRVFAGELTAMWPSPATDVLTAPVPEWSMSYRRTAPAVM QQLRSDTAVQVGWIAPGDEIVVLPPREGARASSLDSLVSSVGEDRWTV TGFERATTINVAPRLLSAEGISEETPKAVTSVLNRPGRLAASSLLPRIRVI RRDALGRERRRGGGRLPSSFVPFEVAEQRLQGD
MG3 효과기	11764	MG3-96 효과기	단백질	알려지지 않음	MSTDMKNYRIGVDVGDRSVGLAAIEFDDAGFPIQKLALVTFRHDGGLD PTDNPKSRKETRGEARRRMRMTRRRKQRLCDLDKVLENLGYTVPEGP EPETYEAWTSRALLASIKLASADELNEHLVRAVRHMARHRGWANPW WSLDQLERASQEPSETFEIILARARELFGEKVPANPTLGMLGALAANN EVLLRPRAEKKKKTGYVRGTPLLAAQVRQIDQVAELRRICEVQDIEEQ YETLRNAIFAHKVAYVPTERVGKDPLAPSKNRTIRASLEFQEFRILDSV ANLRVRTDSRAKRELTEGEYDAAVEFLMGYTAKEQPSWADVAEEIGV PGNRLIAPVLEDVQQKTAPFDRSSAAFEKAMSKKTEARQWWESNDDD QLRSLFIMFLADATNDTEEAAAVAGLPELYMSWPAEEREALSNIDFEK GRVAYSHETLSKLSEYMHEYRVGLHEARKAVFGVDDTWRPPLAKLEE

[0866]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					PTSQPTVDRVLTILRRFVLDCERQWGRPQAITVEHARIGLMGPVQRQK ILNEQKKNRGENERIRNELRESGVENPNRAEVRRHLIVQEQECQCLYC GTMITTTTSELDHIVPRAGGGSSRRENLAAVCRYCNGKKNRKLFYEW AGPVKMQETIDRVRQLRAFKDSKKAKMFKNQIRRLKQTEADEPIDERS LASTSYAAVAVRERLEQHFNEGLTLDDKSRVVLDVYAGAVTRESRRAG GIDERILLRGERDKNRFDVRHHAVDAAVMTLLNRSVALTLEQRSQLRR AFYEQGLDKLDRDQLKPEEDWRDFIGLYPASKEKFLEWKKTATVLGD VLAEAIEEDSIAVVSPLRLRPQNGSVHKETIAAVKKQTLGSSWSADAVK RIVDPEIYLAMKDALGKLKELPEDSARSLELSDGRYIEADDEVLFFPEN AASILTPRGVAEIGGSIHHARLYSWLTKKGDLKVNVLRVYGAEFPWL MRESGSSDVLRMPIHPGSQSFRDVQEETIEMIEGGFAKEIAWITQNDEL EFDPVEYINLPGRSDKLTRFLIYMPETRWRVDGFPESRNLRIRPLMLSQ EDLPSEIKKHKEEKQLSDEEKLLVEALEKGLIITSSKLLGLKSIKVIRRN NLGFPRWRGNGNLPTSFEVRSSALRALGVEG
MG3 효과기	11765	MG3-103 효과기	단백질	알려지지 않음	MSADSLNYRIGVDVGDRSVGLAAIEFDDDGFPIKKLAMVTFRHDGGM DPATGKTPKSRKETAGVARRTMRMRRRKKKRLKDLDKKLRDLGYFV PRDEEPQTYEAWSSRARLAESRFEDPHERGEHLVRAVRHMARHRGW RNPWWSFSQLEEASQEPSETFGRILERAQHEWGERVSDNATLGMLGA LAANNNILLRPRRYEHNPKTGKNAEKLNVRGQEPILLDKVRQEDVLAE LRRICKVQGIEDQYPELAHAVFTQVRPYVPTERVGKDPLQPMKIRASR ASLEFQEFRIRDAVANLRIRVGGSERRPLTEEEYDRAVDYLMEYSDTTP PTWGEVADELEIAENTLIAPVIDDVRLNVAPYDRSSAIVEAKLKRKTQA RQWWDDDANLDLRSQLILLVSDATDDTARVAENSGLLEVFESWSDEE KQTLQDLKFDSGRAAYSIDTLNKLNAYMHEHRVGLHEARQNVFGVSD TWRPPRDRLDEPTGQPTVDRVLTIVRRFILDCERAWGRPQKIVVEHAR TGLMGPSQRADVLKEIARNRNANERIRQELREGGIEAPNRADIRRNSII QDQESQCLYCGKEIGVLTAELDHIVPRAGGGSSKRENLAAVCRACNAS KGSRPFAVWAGPARLERTIQRLRELQAFKTKSKKRTLNAIIRRLKQRE EDEPIDERSLASTSYAATSIRERLEQHFNDDLPDGFAPVSVDVYGGSLTR ESRRAGGIDKSIMLRGQRDKNRFDVRHHAIDAAVMTLLNPSVAVTLEQ RRMLKQENDYSSPRGQHDNGWRDFIGRGEASQSKFLHWKKTAVVLA DLISEAVEQDTIPVVNPLRLRPQNGSVHKDTVEAVLERTVGDSWTDKQ VSRIVDPNTYIAFLSLLGKKKELEADHQRLVSVSAGVKLLADERVQIFP EEAASILTPRGVVKIGDSIHHARLYGWKNQRGDIQVGMLRVFGAEFP WFMRESGVKDILRVPIPQGSQSYRDLAATTRKFIENGQATEFGWITQN DEIEISAEEYLATDKGDILSDFLTVLPENRWKVVGIGDNRRFKIRPLLLS NEIIPDTLNGRSIKSEERDLIVSVLDKGVRVVASTLLTLPSTKIIRRNNLG IPRWRGNSHLPTSLDIQRAATQALEGRD

[0867]

[0868]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
MG15 효과기	11766	MG15-166 효과기	단백질	알려지지 않음	MKYIIGLDMGITSVGFASMMLDDNDEPCRIIHMGSRIFEAAENPKDGSS LAAPRRENRSMRRRLRRKRHRKERIKNLIIQNNMMTADEIDAIYNSGK ELPDIYKVRAEALDRKLDTEEFVRLLIHLSQRRGFKSNRKVDAKEKGS EAGKLLSAVKSNKELMVERNYRTIGEMLYKDEKFAEFKRNKADDYSN TFARSEYEEEIREIFRAQQEYGNPYATEELKDSYLEIYLSQRSFDEGPGG DSPYAGNQIEKMVGSCTLEPDEKRAAKATFSFEYFNLLTKVNSIKVVSS AGKRSLNEDERKRVIKLAFAKNAISYASIRKELNLGDGERFNISYSQSD KSIEEEIEKKTKFTYLTAYHTFKKAYGSVFNEWSAEKKNHLAYALTAYK NDNKIKKYLTENGFDAVETDIALTLPSFSKWGNLSEKALNKIIPYLEQG MLYHDACTAAGYNFKADDTDKRMYLPAHEKEAPELGDITNPVVRRAI SQTIKVVNAIIREMGESPCFVNIELARELSKNKAERSKIEKGQKENQAR NDRIMERLRNEFGLLSPTGQDLIKLKLWEEQDGICPYSLKPIKIENLFD VGYTDIDHIIPYSLSFDDTYNNKVLVMSSENRQKGNRIPMQYLDGKRR DDFWLWVGSSNLSRRKKQNLLKETLSDDDLSGFKKRNLQDTQYLSRF MLNYLKKYLTVAPNATGRKNTIQAVNGAVTSYMRKRWGIQKVREDG DTHHAVDAVIISCVTAGMTKRISEYAKYKETEYQNPETGEYFDVNKNT GEVINRFPMPYAWFRNELLMRCSEDPSRILHEMPLPNYATDEAVAPIFV SRMPKHKVRGSAHKETIRQSFEEDGKKFTVSKTPLTDLKLKNGEIENY FNPESDVLLYNALKERLIAFGGDAKKAFEAPFHKPKSDGSEGPLVKKV KLICKSTLTVPVLKNTAVADNGSMVRVDVFFVEGEGYYLVPIYVSDTV KKELPNKAIVAHKPYEEWKEMREENYVFSLYQNDLIGIKLKKEMKFS LVQKNSTLPKNINVKDGLFYYKGTNISGANISVINNDNTYTVESLGVKR IPVIEKYQVDVLGNVSKVGKEKRVRFQ*
MG15 효과기	11767	MG15-191 효과기	단백질	알려지지 않음	MKYIIGLDMGISSVGFATMMLNEKDEPCRIMHMGSRIFEAAEHPKDGS SLAAPRRENRSMRRRLRRKCHRKERIKNLIVSNNILTADEIDTIYNSGK DLTDIYQIRAESLDRKLNTEEFVRLLIHLSQRRGFKSNRKVDAKEKGSE AGKLLSAVNSNKELMTEKNYRTIGEMLYKDDKFAVFKRNKADDYTNT FAREEYEEEIQKIFSAQQEYGNQYATDELKEGYLEIYLSQRSFDEGPGG NSKYAGDQIEKMVGFCTLEPDEKRAAKATYSFEYFNLLTKVNSFKILS AEGKRSLNENERQKIIKLAFNKNAISYASLRKELSVGYSERFNISYSQSD KSIDEIEKKTKFTYLTAYHTFKKAYGSALIEWSTEKKNHLAYALTAYK NDNKIKNCLTEHGFNETECEIALTLPSFSKWGNLSEKALNKIIPYLEQG MLYHDACTAAGYNYKADDTDKRMYLPAHEKEAPELENISNPVVRRAV SQTIKVINAIIREIGESPCFVNIELARELSKNKTERNKIEKGQKDNQARN DRIMERLRNEFGLISPTGQDLIKLKLWEEQDGICPYSLQAISIERLFEAG YTDIDHIIPYSISFDDTYNNKVLVMSSENRQKGNRIPMQYLQGKRRDEF WLWVDSSNLSRRKKQNLLKETLSDDDLSGFKKRNLQDTQYLSRFMLN YLKKYLKLAPNATGRKNTIQAVNGAVTSYMRKRWGIQKVRENGDTH HAVDAAVISCVTAGMTKRISEYAKYKETEYQYPENGEYFDVDKRTGE

[0869]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					VINRFPMPYPWFRNELLMRCSENPSRILQEMPLPNYAADEAVDPIFVSR MPKHKAKGSAHKETIRKAFEEDGKKYTVSKVPLEDLKLKNGEIENYF NPKSDTLLYNALKSRLIEFCGDAKKAFEAPFYKPKSDGSKGPLVKKVKI VNKATLTVPVLKNTAVADNGSMVRVDVFFVEGEGYYLVPIYVADTVK KELPQKAIIANKTYENWKEMKEENFVFSLYPNDLIRIKSKKEMKFNLV NKESTLAPHYQSKDAYVYYKGSDISTAAITAITHDNTYKLRGLGVKTLL AIEKYQVDVLGNIIKIGREKRMRFR*
MG15 효과기	11768	MG15-193 효과기	단백질	알려지지 않음	MNYRLGLDIGITSVGWAVLEHDSSEEPFRIADLGVRIFDRAEHPKDGSA LALPRREARSSRRRIRRHRHRLERIKALLESQGIITIEKLQEVYHGSKEL TDIYELRCLGLDNLLTQEEWARVLIHLAQRRGFKSNRKKEIKENKKEK NEDGKLLAAVRDNQALMQEKNYRTIGEMFYRDDKFSLNKRNKSELYS HTVGREQILDEIAQLFTAQRRLGNSYAGEKVEQLYTDIVSRQRSFDEGP GTPSPYAGNLIERMRGKCTFEKEEPRAAKACYSFELFNLLQKINSLRID DKNSASRPLNKEERQLLIQSAHEKADIKYTDLRKKLQLSPEQRFNTLSY GRDDVEEIEKKNKFNYLKAYHDIRIALDKVSKGRIKQLPVEHIDMIGEI LTLYKNEDRITSKLRKTGLTEYDIEELLSLSYSGFGRLSLKAIKNILPYL QEGHIYSEASTLAGYNFRGHDNVVKQMYLPANNEQLQDITNPVVRRA VSQTIKVINAVIRKYGSPQLICIELSREMGKNFFDRKRIEKQIKENTDLN DAVRNKIIEYGHLNPTGLDIVKMKLWQEQDGRCAYSGEPISIQDLFDA GIADVDHIIPYSVSFDDSYANKVLVKSSENRQKGNLLPLEYMKNNPNKQ EKFIVWVNTNVRNFRKQQRLLKKTITEEDRNKWKERQLNDTKYISRF MLNYIRDYLEFAPAENIGKRKVISVNGNITAYMRKRWGLKKDRLAGD LHHAQDAVVVACVTEGMIQKITRYSQYCEAKNNRSHFVDYETGEVIDT LRNRFGADFVEPWDNFKIEMVSRLSDDPALRIDAYKLDNYLDLKDIKPI FISRMPNRKNKGAAHQETIRSSRLTGEGLVVSKINITKLKLDADGEIAN YYNPKSDMRLYNALKNRLQQFNGNGEAAFKEPVYKPAAPGKTISPVK KVKVIDKSNLNVAVGKGVAANGDMLRIDVFKKGDGYYWVPIYVADTV KETLPNKACVHSKPYELWKEMDDNDFIFSLYPNDLIRFIPNNGEEAFM YYIKAGISTASITVESHDRSQSIPSLGVKTLKILEKWNVDVLGNRTLVKN EKRQYYPGQTTR*
MG15 효과기	11769	MG15-195 효과기	단백질	알려지지 않음	MKYGIGLDIGIASVGSAIVLLDGSDEPYKIYRLSSRVFPKAETDKGESLA SDRRNNRGMRRRLRRRRHRKERIRNLIYDVFDVNEDYITEIYAESGLK DIYQIRYEALDRKLDKDEFIRLLIHLSQRRGFKSNRKSDVGKKDDGKLL DAVKKNTELRQKMYRTIGEMLYCDDRFADSKRNTEGNYKNTFSRSEY GEEIKCIFENQRAFGNEYATEDFEEKFIGIIMSQRSFDEGPGPGKDSKYS GNLIERLVGKCTFEREEMRAPKASYTFEYFNLLSKINAIKIVSANNTRC LTEEQRAIIKNLAFSKNDLSYKSLRKALGLNEDELFNISYTDSDTNKKK AKNKKGTADKFSERDAVEDKTKFSYLKAYHTFKKAYGDEYDRWSTD KKNYLGYVLTVFKTDKNVELKLRERNFSDDEINIAQTIPSFSKLGNLSV

[0870]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					KAMNKMIPFLENGEIYNKAAEMAGYNFKADDKCAGMVLPANESKAPE LGDIANPVVRRSVSQTIKVINAIVREMGESPVYVNIELARDLAKSHDER EKIEKNNNANRQKNDKLMEELRKEFKLANPKGEDLIKLKLWNEQNGR CMYSYEPIVRERLFEPGYAEIDHIIPYSISFDDTMSNKVLVKAKENRDK GDRLPLQYMTGKKADDFRVRVSNSILSRKKKNNLLKEQLTEEDRKSF KQRNLQDTQYISRFMMNFIKKYLKFAGEAKIVAVNGRATDYMRKRW GIRKIRADGDTHHAVDACVVACATHGMVQRISEYSKYKETEYIDDDGR IYDINKKTGELTDRFPMPYPMFRKELEMLTSNDPQRILSQSKFPNYSGD EQLEPIFVSRMPQHKVTGAAHEDTLRKPVTENGQNYVVQKVKLTKLK LNDNGEIENYYMPQSDKLLYNALKERLAEYGGDGEKAFKNLTEPFRK PKSDGTPGPIVTKVKTIEKQTCGVPLADNTTIADNGPMVRVDVFYVAG EGYYLVPIYVSDTVKKELPNRACVANKPYSEWKVMDDKNFLFSLYNN DLVKITFKREKKKFSLVNKDSTLDKEHRTKSELLYYKGTNIHTASITVIT HDNTYIFEGMGVKTLISIEKYEVDVLGRVRKVNKEKRMGF*
MG15 효과기	11770	MG15-217 효과기	단백질	알려지지 않음	MRYVLGLDIGIASVGWAVLELDSFDEPFKIIDLNSRIFTKAENPQDGSSL AKPRREARGNRRRLRRRRHRLDRIKHLIYVVGLMSKEGYDKLYTSGF DKDVYTLRAEGLDRSLSAAEWTRVLIHIAKHRGFKSNRKSTTVAGEDG KVLQAVKENQEILSKYRTVGEMFHNDDKFKSRKRNTTDSYILCVSRH MLKDEIKALFTAQRSFNNPFTDEKFEAKYIEIFESQRAFDEGPGSESPYG GNQIEKMIGQCTFEDGEKRAPKASYSFMRFNLLQKVNHIRIKSSSATRA LSEEERSIIIALAYKSPNFTYGSIRKAIKLPYDMTFSDVYYKYEKGLSEE ELIDKNEKSNKIKSLEPYHTIRKALDKVYKNRIEELSEDNINDIAYAFSV YKTNAKISQKLKECGIDNKDIEALINNLGTFAKFGHLSVKACKKINKYL ETGMTYDKACEAAGYDFKGHCGEKTKFLSGAADEIKEIPNPVVKRALS QTIKVINAVVRKYGSPVEVHVELAREMARSKKDRDKINSIMKDNQAAN DRIRGILKNEFNINNPTGIDILKYRLYQEQQGICVYSQKVMDLERVMK DGKYAEIDHILPYSRSFDDSYNNKVLVKTEENRLKRNRTPYEYMQDNE VKYKGFCEIVKSIIHNPTKVSNLLRENYNPQLVKDWKARNINDTRYISK FVYNFLNDHLLLADGMRKRRIIAVNGAVTGYIRKRLGINKIRANGDTH HAVDAVVIACVTQGVISKVTKYSQWQEVFYKNNNTGKLVDYETGEIIT KDNFDEFIDSKFPEPWPLFRKELEARAGTNPKYEIECLRLDTYSPEEVT SLRPMFVSRMPNRKVTGQAHQETIRSSRMANDGMTVSKVPLTSLKLS KDGQSIEGYFSPESDRLLYEALLNRLQGFGGKADKAFTEPFYKPKNDG SKGPIVKAVKITAPSTLNVRINNGKGLADNGSMVRIDVFHITAGKGAGY YLVPIYVADTKKDKLPSKAIVAHKKYDEWKLMDEKDFVFSLYPNDLIY VEKKGNIELSLDKKIEKDSTLPKKISSPQGYFYYVKAGIGDGSVQIKSH DGVYLLPSMGVKTLKLLRKCVVDELGNISFVGKEKRQHF
MG15 효과기	11771	MG15-218 효과기	단백질	알려지지 않음	MNKSVKFGLGLDVGIASIGWATVALDEKGEPYKLLNLGSRIFDKAENP KDGSSLAMQRRQFRSQRRLIRRRRHRLDRVIFLFQKIGLCTNDELNKL

[0871]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					FQTPAPKNVYELRVDALDRKLDKQEWIRVLYSVLKHRGFKSNRKNAK SEDGLLLKAIQSNEEIIFNNGYRTVGEMLFKDPLFTNSKRNKGGSYKNC VSRISIQKELDLLFEKQREYGNEFTSDYFKESFLNIFLAQRNFDEGPGAP SCYGGNLIEKMIGYCALKKDKKRAPKASLSFALFSFWSKINNIRYYDSN RCKEYSISTEQARKVLQKALIKSDLNYSDIRKIIGLDDGCYFKDITYTSK KSKKTKKKQQAKNNNESYLSIDGLTLVEDVLTPEKDANEQSVDTILDIE KKSKIKFFNSFISIKKAANGMLDHLNPFDPEDRKIFNRISYAFTVSKNDD GIAGYLNEIDISAEIKESLINNLDGFSQFGHISEEACEKLLPFLENGCDYT SACVEAGYVSSSDDVVGKDLLPARSSELDDIVNPVVRRSVSQLIKVVNSI IRENGKPEYINVEFARDLARSFADRREITKEQEDRKAHNEKVRKIIEET FGRARASSKDILIYKLWMEQESKCIYSGKHIDAHRLFEPGYVEVDHILP FSKSFDDSMTNKVLVFKEENQNKANRTPLEYMRASKPMYVDSYLAMV KFLYKSNFKKLQNLTTEFCGNDREEWSTSNLNDTRYIAKFIHKYIKDH LYPAKTGIKRVRAVNGRITSLLRHFWGIKKIRENGDLHHAVDAAVISV TTDMIIKKFSEASKRHEEYDEKIMVEKPWEMFVDEISARISENPADQVE RLGLSTYSDEEKSSLKTPFVSRMPRHKVTGSVHDSTLRSPVLLKQGINA YVSKREINDKLLKVFDDKKCEFFNMQLDAKFYASLKSYLEDKNENKG EFHKIKKDGSLGPVVRKVKVVENCSSGVFLNNGKAFAKNGDMIRIDVF QVKEGKDKGFYFVPIYVADKVKDKLPSRAVIQGKDPKDWKEMKDEDF IYSLYPNDLIYFSSKKIVGFKNNNKSSEILGVDMSEGYLYYTGADISTASI NVDFVDNSFSKHGLGVKTLKEFRKFTIDVLGNIHEVKKEKRLVFGRK
MG15 효과기	11772	MG15-219 효과기	단백질	알려지지 않음	MNYILGLDIGIASVGWAAVALDANDEPCKILDLNARIFEAAEQPKTGAS LAAPRREARGSRRRTRRRRHRMERLRHLFAREELISAENIAALFEAPA DVYRLRAEGLSRRLDEGEWARVLYHIAKRRGFKSNRKGAASDADEGK VLEAVKENEALLKNYKTVGEMMFRDEKFQTAKRNKGGSYTFCVSRG MLAEEIGELFAAQREQGNPHASETFETAYSKIFADQRSFDDGPDANSRS PYAGNQIEKMIGTCSLETDPPEKRAAKASYSFMRFSLLQKINHLRLKD AKGEERPLTDEERAAVEALAWKSPSLTYGAIRKALPLPDELRFTDLYY RWDKKPEEIEKKKLPFAAPYHEIRKALDKREKGRIQSLTPDALDAVGY AFTVFKNDAKIEAALSAAGIDGEDAVALMAAGLTFRGFGHISVKACRK LIPHLEKGMTYDKACKEAGYDLQKTGGEKTKLLSGNLDEIREIPNPVV RRAIAQTVKVVNAVIRRYGSPVAVNVELAREMGRTFQERRDMMKSME DNNAENEKRKEELKGYGVVHPSGLDIVKLKLYKEQGGVCAYSLAAMP IEKVLKDHDYAEVDHILPYSRSFDDSYANKVLVLSKENRDKGNRTPME YMANMPGRRHDFITWVKSAVRNPRKRDNLLLEKFGEDKEAAWKERH LTDTKYIGSFIANLLRDHLEFAPWLNGKKKQHVLAVNGAVTDYTRKR LGIRKIREDGDLHHAVDAAVIATVTQGNIQKLTDYSKQIERAFVKNRD GRYVNPDTGEVLKKDEWIVQRSRHFPEPWPGFRHELEARVSDHPKEM IESLRLPTYTPEEIDGLKPPFVSRMPTRKVRGAAHLETVVSPRLKDEGM

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					IVKKVSLDALKLTKDKDAIENYYAPESDHLLYEALLHRLQAFGGDGEK AFAESFHKPKADGTPGPVVKKVKIAEKSTLSVPVHHGRGLAANGGMV RVDVFFIPEGKDRGYYLVPVYTSDVVRGELPMRAVVQGKSYAEWKLM REEDFIFSLYPNDLVYIEHEKGVKVKIQKKLREISTLPREKTMTSGLFY YRTMGIAVASIHIYAPDGVYVQESLGVKTLKEFKKWTIDILGGEPHPV QKEKRQDFASVKRDPHAAKSTSSG
MG3 효과기	11794	MG3-42 효과기 PI 도메인	단백질	알려지지 않음	HGDVLTATIPASTFSFRNTPATLRKKLLAGEAVSVGWLTQNDEIEIEVD EFACGNTSFAKFLTEIPEKRWRVDGFYDNRRLRIRPAYLSAEGLTDNHS KVVHETLEKGQFVNAGALLSASRTLLIRRTALGAPRWKLDSSGLPVSF SPLKLAEEAL
MG3 효과기 sgRNA	11795	MG3-42 효과기 sgRNA	뉴클레오티드 (RNA)	알려지지 않음	(N22) GTTGGGAATCGTCACTGAAAAGTGACGATTCTCAACAAAAGACTTT TGTCTTGATTTCTTTATCCCCCGGCATTTTGTGCCGGGGGATTCGTT ATT
MG3 효과기 tracr	11796	MG3-42 효과기 tracr	뉴클레오티드 (RNA)	알려지지 않음	GCATCGTTTGAAGAAGTGACGATTCTCAACAAAAGACTTTTGTCTT GATTTCTTTATCCCCCGGCATTTTGTGCCGGGGGATTCGTTATT
MG16 효과기	11797	MG16-3 효과기	단백질	알려지지 않음	MATKKILGLDLGTNSIGWALIETEDSNPKSILAMGSRIVPLSTDDSTQFA KGQAITKNADRTQKRTARKGLNRYQMRRAMLTEELRRHGMLPERTD ENIMDLWRLRSDAATDGKQLSLPQIGRVLYHINQKRGYKHSKADNSA NTKQTKYVEAVNQRYRDIQACHQTIGQYFYEQLLSSAVQTPSGSYYTY RIKDKVLPREAYIAEFDQIMKVQRVFYPDVLTDELVDTLRNHIIFYQRP LKSCKHLVSLCEFEKRPFKREDGQIVYSGPKCAPRTSPLAQFCTVWEA VNNITLTNRQNETFEITQEQRVAMADFLNQHDKMGVKDLQKILGISPK DGWWAGKAIGKGLKGNTTFTQLREALGNLPNAEHLLKMKLSMVDAA VDTTTGELIRQVSPQVEEEPLFRLWHLVYSLQNEDELRKALRKQFGID DEEVLDKLCKIDFVKPGYANKSHKFIRKLLPYLMEGYQYHEACAHIGV NHSDSLTAEQNAARPLLDKIPLLEKNELRQPVIEKILNQMINVVNALKA EYGDIDDVRIELARELKSSKDEREAAFKRNNENERQNKIYENRIREYGI QPSRSRIQKYKMWEESNHLCFYCGKPVNVTDFLAGAEVEIEHIIPQSVL FDDSYSNKVCACRACNQAKGNLTAREFMEKHSKEEYDSYLRRVDDAF NAHRISKTKRDHLLWRKEDIPQDFIDRQLLQSQYIAKKAAEILRQGYR NVYATSGSVTDFLRHQWGYDEILHRLNLPRYQQVEGLTEDVTYDHCG QEHQQERIKGWTKRLDHRHHAIDALTIALTQQSVIQRLNTLNNSREQ MFDELGKRTDTPEYTEKRSLLEKWVDAQPHFSVQEVTDKVDGILVSFR AGKRAATPAKRAVYQNGKRHIVQTGLQVPRGALSEETVYGKLGNKY VVKYPLGHQSMKMDDIVDPTIREIVRTRLNAFGGKAKDAFAEPLYSDA AHQMQIKTVRCYTGLQDKAVVPVRFNAQGEPVGFVKMGNNHHIAIYR

[0872]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					DAKGQYQESVVSFWQAVERKRYGIPVVIEQPHEVWDKLINSDNIPQDF LETLPHDDWQFVVSLQQNEMFILGMDDADFEAAMEQKDYRTLNKYL YRVQKISSKEYCFRYHTETSVDDKYDGVINKSISMELQKLKRLTSISAFF SQHPHKVRVNLLGEVSAL
MG86 효과기	11798	MG86-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MKKILSFDLGITSIGYSVLTEDEAQKYSLLDYGVSMFDKPTDKDGNSK KLLHAQALSTKKLYKLRKERKKNLALLFEKYALAKASKLLEQEKKNL YMYKWQLRAKKVFEERLSIGEIFTILYHIAKHRGYKSLDSGDLLEELC VELGIKIDVKKEKKDDEKGKIKQALSTIESLRKEYPKKTVAQIIYEVEL QKERPVFRNHDNYNYMIRREHINDEIATIIRKQKEFGNFENIDSEVFIVD IIAAIDDQKESTNDMSLFGKCEYYPKEHVAHQYSLLSDIFKMYQAVANI TFNKEKIKITKEQIRLLTEDFLNKIKKGKSVKELKYKDVRKILKLDESV KIFNKEDSYQRAGKKVEHTITKFHFVDNLSKIDKSFIEDIFNADESYVL MREIFDVIHKEKSPKRIYEQLKSKVSSEAVIIDLIRYKKGSSLNISSYAMA KFLPYFEEGMTLDAIKEKLDLGRKEDYSVYKKGIKYLHISTYEKDDDL EINNHPVKYVVSAVLRVVKHLHAKHGTFDEIKVESTRELSLNDKVKKE IDKANKAREKEIEKIISNDEYQKIAKEYGKNIHKYARKILMWEAQERFD VYSGKSIGIDDIFSNRVDVDHIVPQSLGGLYVQHNLVLVHRDENLQKSN QLPMNYITDKEAYINRVEHLFSEHKINWKKRKNLLASNLDEIYKDTFES KDLRATSYIEALTANILKRYYPFIDEKKSVDGSAVRHIQGRATANIRKV LGVKTKSRESNIHHGVDALLIGVTNPSWLQKLSNIFRENFGKIDDEARK NIKKALPYIDGVEVKDIVKEIEQKYNSYGEDSIFYKDIWGKAKTVNFW VSKKPMISKVHKDTIYADKGNGIFTVRESIIAKFINLKITPTTFPEDFMK KFHKEILEKMYLYKTNSNDVICKIVQQRAEEIKELLWSFEFLDVKNKE EMQEAKANLESLVHRELFDNNGNVVRKVKFYQTNLTGFKVRGGLAT KEKTFIGFRAFKKDKKLEYKRIDVSNFEKIKKSNDGSFKVYKNDIVFFV FDEEKYKGGKIVSFLEDKKMAAFSNPKYPANIQAQPESFLTIFKGKANS HKQVSVGKAKGIIKLKVDILGNIESYQVLGNAKSKLLDEIKSIVSH
MG86 효과기 sgRNA	11799	MG86-1 효과기 sgRNA	뉴클레오티드 (RNA)	알려지지 않음	(N20)GUUUUAAUACCCGAAAGGGUAUUAAACUAAGGUCACUUUUUA GUGGCUGACUUUAGAGUAUGGCUUUGGCUAUACUCCAUUUU
MG94 효과기	11800	MG94-1 효과기	단백질	알려지지 않음	MRKKIRYVIGLDIGIASVGWAALLLDENDNVCGIVRAGVHTFDEAVVG QSKITGAAYRRGYRSGRRSIRRKVNRIQRVKNLLQRLNIISKKDLEEYF SGAVENIYYLRCAAIQNEPAYILNNKELAQLLIYYAKHRGYKSNTSYEQ KTDDSKKVLSALSENKKYMLEKGYQTAGEMLYRDEKFRRKRYGSSEE CELLLVRNSGDDYSHSISRELLVEEVHVIFARQRELGNKLTTKELEDQF VEIMQSQRNYDEGSGEGSPYGGNLIEKMVGECTFEKGEKRACKASYTS ERFVLLEKLNHLRIQSKNGDVRALTEEERDAIIKLAYKNKDVKYKALR TILKLNPDERFGGLTYSRGDIENSTEGKSVFVSLEYWYEIKKVLGLFYD DLDNEETQQLLDSIGTILTCYKSDDLRRRKFEQLHLEQEKIEHLLALNY

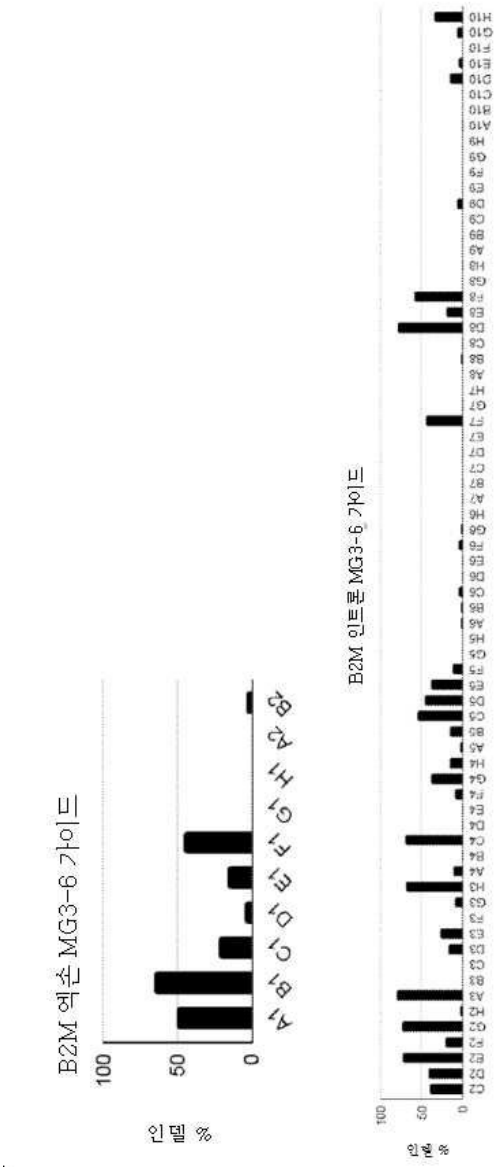
[0873]

범주	서열 번호	설명	유형	유기체	서열
					TKFQNLSFKAMKNIMPELEKGLSYTEACSNAGYGDKETIEGKNKYISK ELLNNTLDSIMNPTVKRAVRRTIRILNELIKQYGSPVEVHVEMARDLTH SQTVTNKMKKRQDENKAEKEEAKRFICENFGKTEAQVSGKDILRYRL WKSQNQIDIYSNTMIPVSDILDYEKYEVDHIIPYSCSFNDSFNNKMLVRK KDNQDKKNRTPYEYIGSDEKKWEAFATCANTYVMNYGKRKNMLTKV PASNTGEWMSRNLNDTRYTTKVVTDLIRKHLKFEAYVDQKRKKHIYPI NGGITAKLRYEWGLEKDREKSDKHHAQDAVVIACCTDGMIQRLSRQY MLQEIGIVTWKNHKLVDRRTGEIVEETNLPWECFREEVEMFMADSPE DYIEKAKKNGYKGEAPKPIFVSRLPQKKTTGKINEDTLRSVRIDSKGKA RFVNKTKLQDLKLVEVDGKKQIKDYYRPEDDKLLYDKLLERLVKNDD AKVVFAEPFYKPKKDGSDGPIVRSVKTYGKTVKNQVLVGDGVAERGG IYRCDVFKRKDEYYAVVVYYRDLYIGNLPNNAAHFDIEMKKGEFEFSL YKDDLIRFVKDGKEQYAYYKYINANNSQITYTEHDTSKETKCTTIRTLD KFQKMNVDLLGNIYSSDKEEREWN*
MG94 효과기	11801	MG94-1 효과기 PI 도메인	단백질	알려지지 않음	KTVKNQVLVGDGVAERGGIYRCDVFKRKDEYYAVVVYYRDLYIGNLP NNAAHFDIEMKKGEFEFSLYKDDLIRFVKDGKEQYAYYKYINANNSQI TYTEHDTSKETKCTTIRTLDKFQKMNVDLLGNIYSSDKEEREWN*

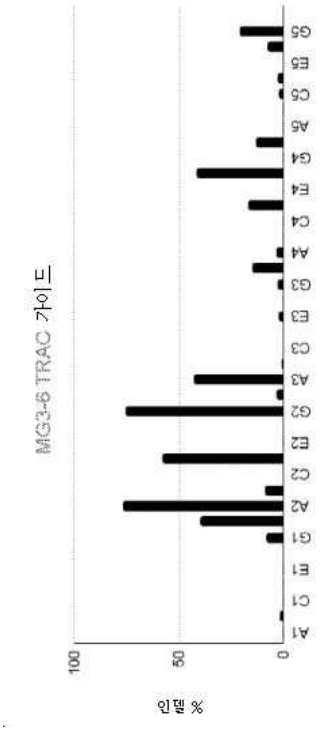
[0874]

도면

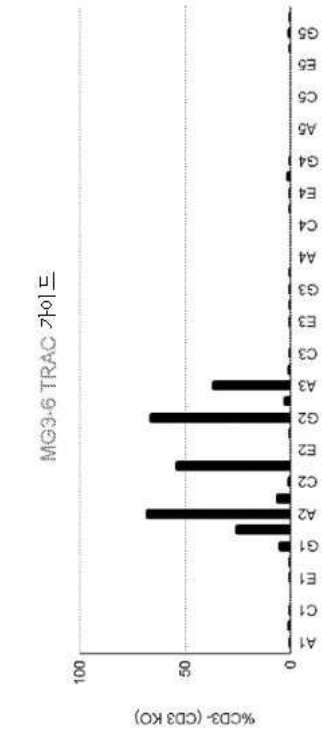
도면1


B2M 엑손 MG3-6 가이드
100
50
0
인델 %
A1
B1
C1
D1
E1
F1
G1
H1
A2
B2
B2M 인트론 MG3-6 가이드
인델 %

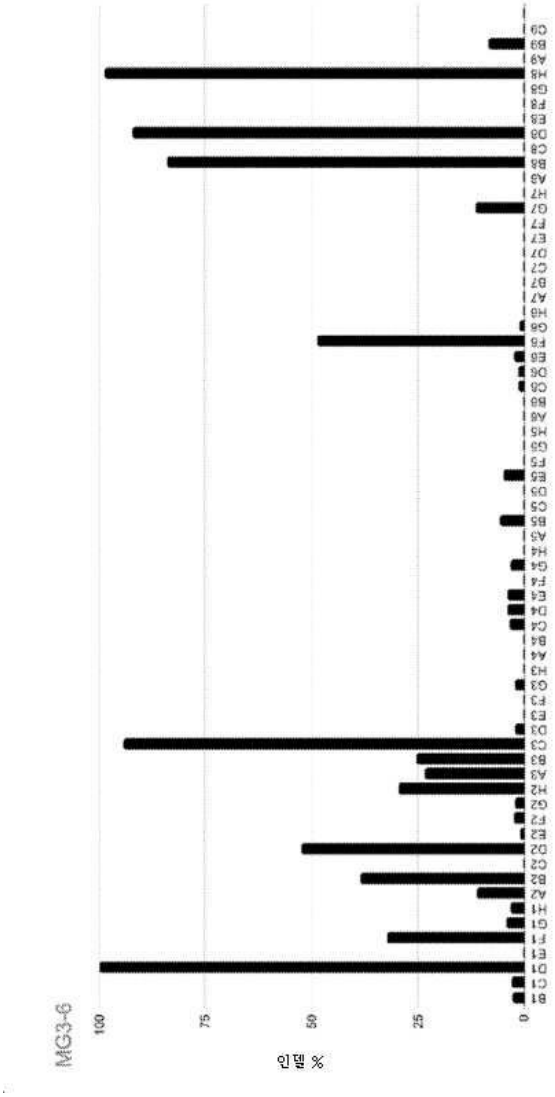
도면2a


MG3-6 TRAC 가이드
인델 %
100
50
0
A1
C1
E1
G1
A2
C2
E2
G2
A3
C3
E3
G3
A4
C4
E4
G4
A5
C5
E5
G5

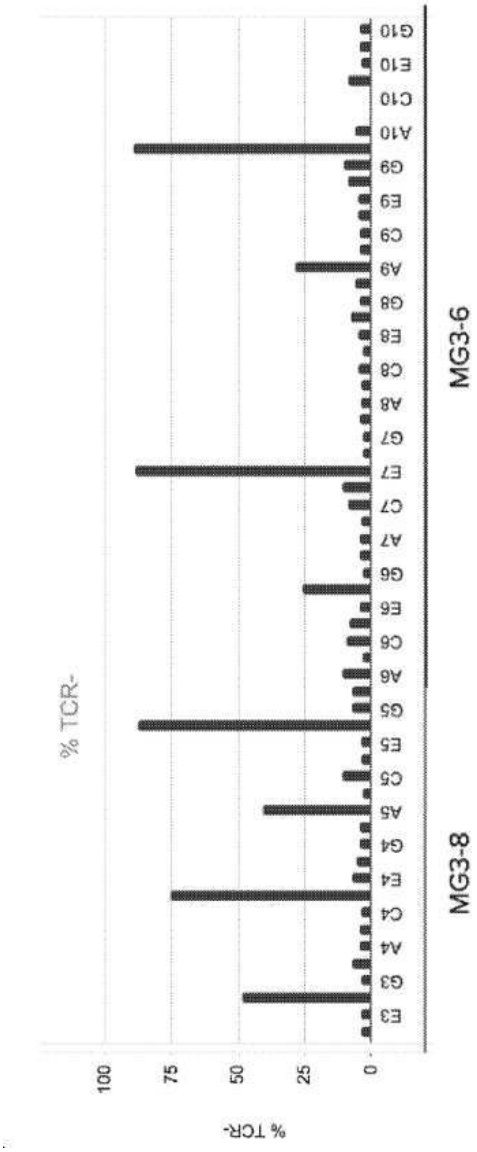
도면2b


MG3-6 TRAC 가이드
%CD3- (CD3 KO)
100
50
0
A1
C1
E1
G1
A2
C2
E2
G2
A3
C3
E3
G3
A4
C4
E4
G4
A5
C5
E5
G5

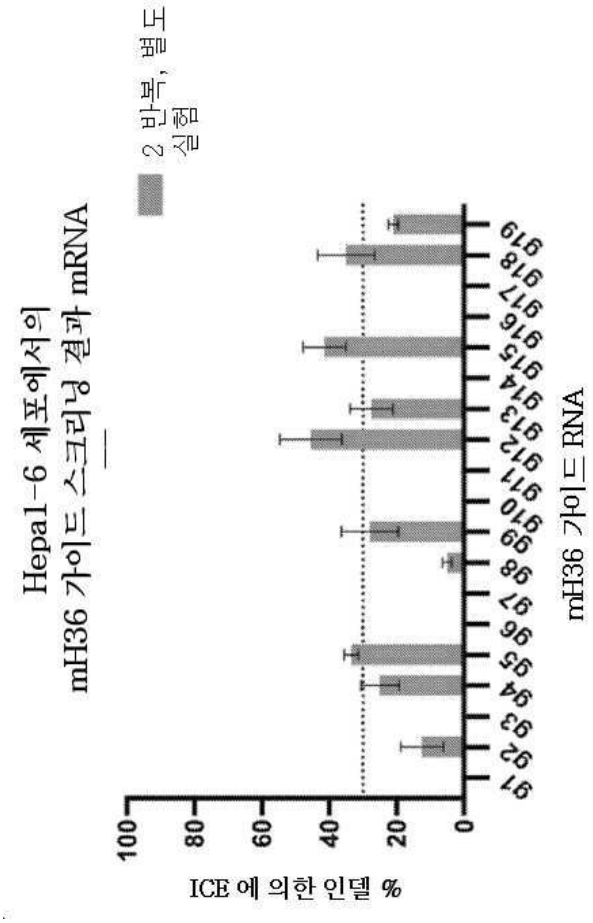
도면3



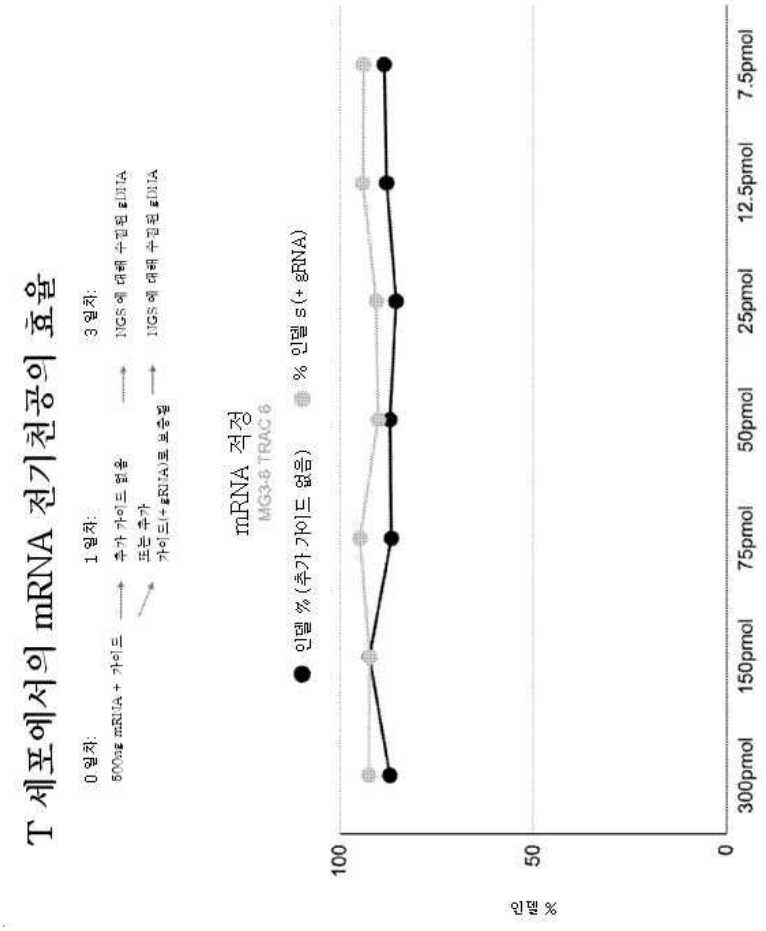
도면4


% TCR-
100
75
50
25
0
% TCR-
E3
G3
A4
C4
E4
G4
A5
C5
E5
G5
A6
C6
E6
G6
A7
C7
E7
G7
A8
C8
E8
G8
A9
C9
E9
G9
A10
C10
E10
G10
MG3-8
MG3-6

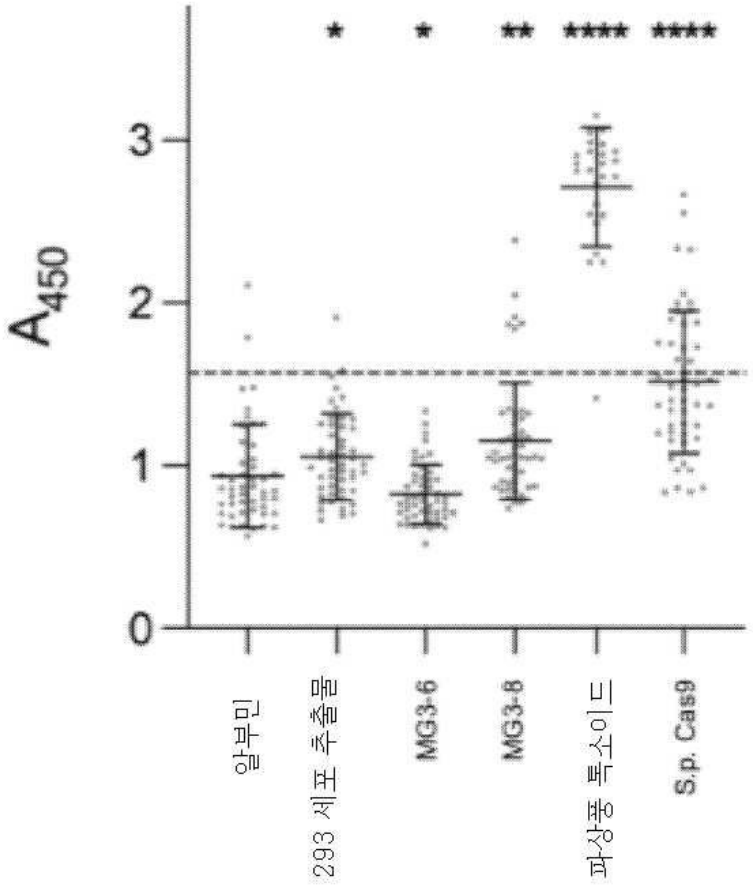
도면5


Hepa1-6 세포에서의
mH36 가이드 스크리닝 결과 mRNA
2 반복, 별도 실험
ICE 에 의한 인델 %
100
80
60
40
20
0
97
92
93
94
95
96
97
98
99
910
911
912
913
914
915
916
917
918
919
mH36 가이드 RNA

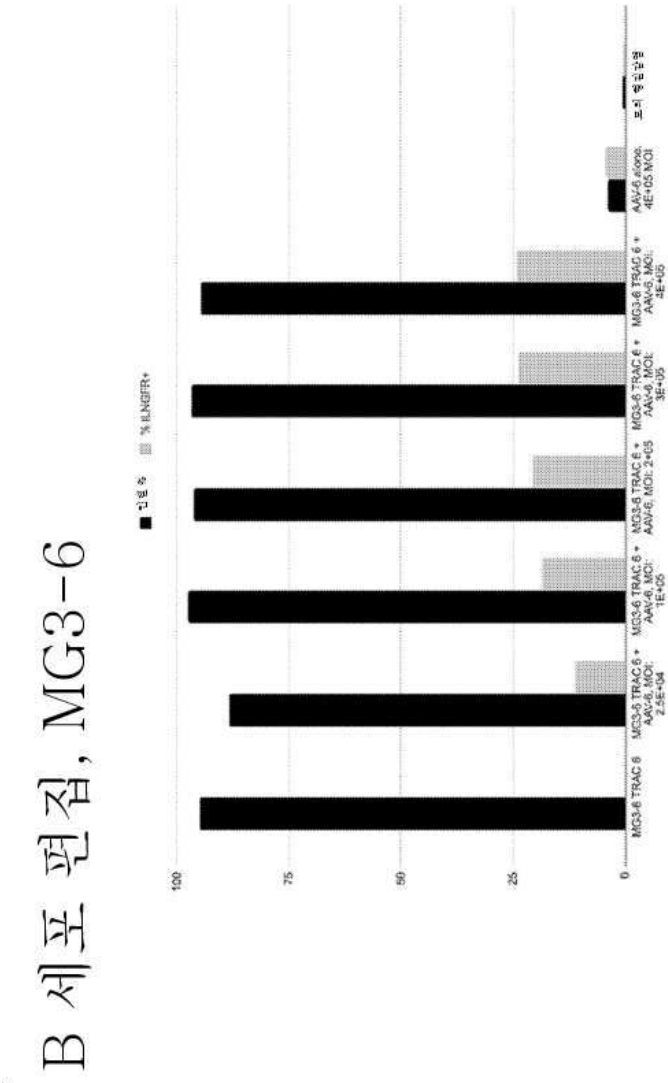
도면6


T 세포에서의 mRNA 전기천공의 효율
0 일차:
500ng mRNA + 가이드
1 일차:
추가 가이드 없음
또는 추가
가이드/+ gRNA로 보충됨
3 일차:
NGS 에 대해 수집된 gDNA
NGS 에 대해 수집된 gDNA
mRNA 적정
MG3-6 TRAC 6
인델 % (추가 가이드 없음)
% 인델 s (+ gRNA)
100
50
0
% 인델
300pmol
150pmol
75pmol
50pmol
25pmol
12.5pmol
7.5pmol

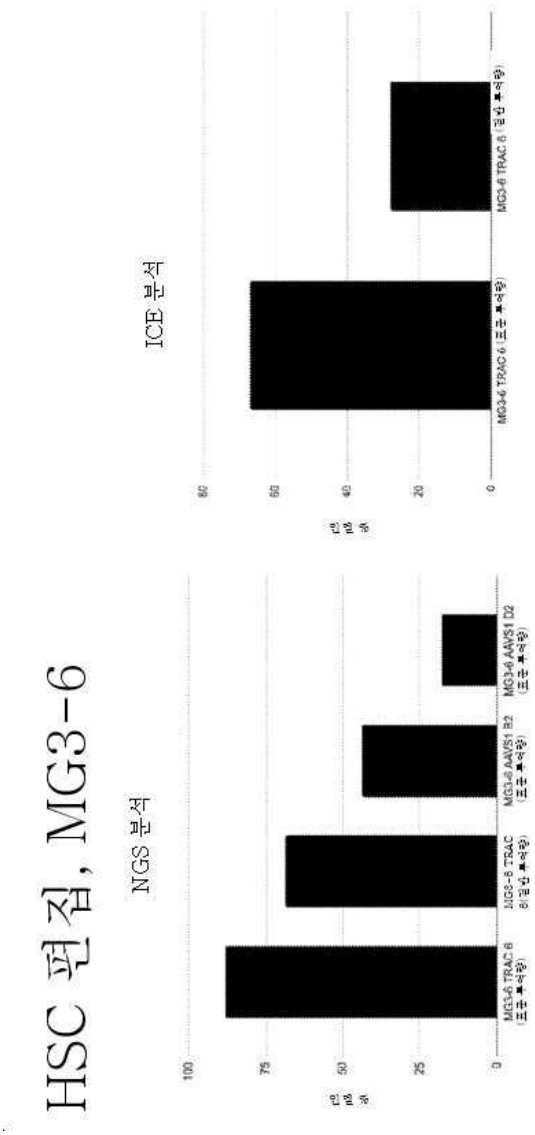
도면7



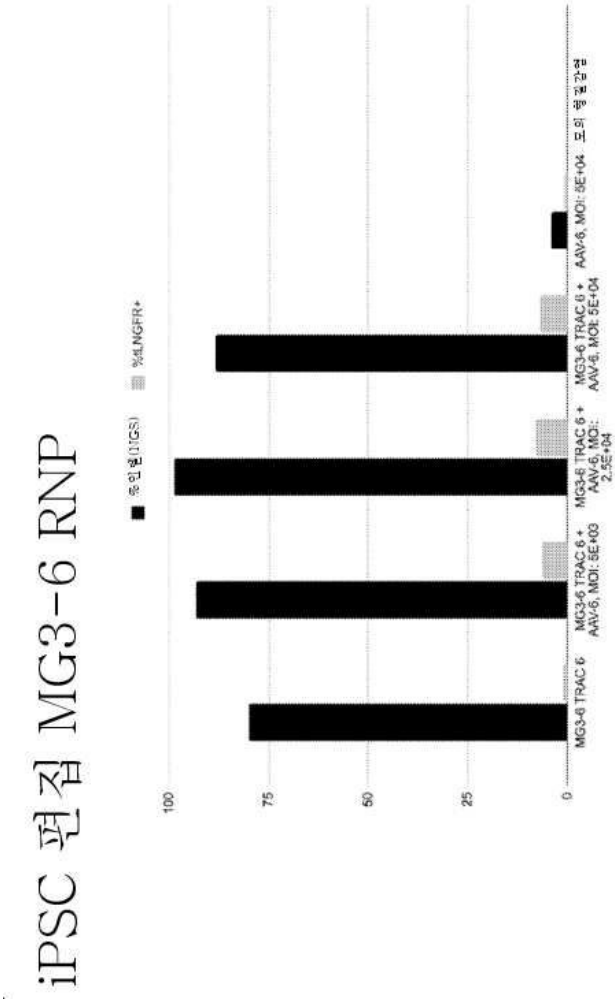
도면8


B 세포 편집, MG3-6
% iLNGFR+
100
75
50
25
0
MG3-6 TRAC 6
MG3-6 TRAC 6 + AAV-6, MOI: 2.5E+04
MG3-6 TRAC 6 + AAV-6, MOI: 1E+05
MG3-6 TRAC 6 + AAV-6, MOI: 2+05
MG3-6 TRAC 6 + AAV-6, MOI: 3E+05
MG3-6 TRAC 6 + AAV-6, MOI: 4E+05
AAV-6 alone, 4E+05 MOI

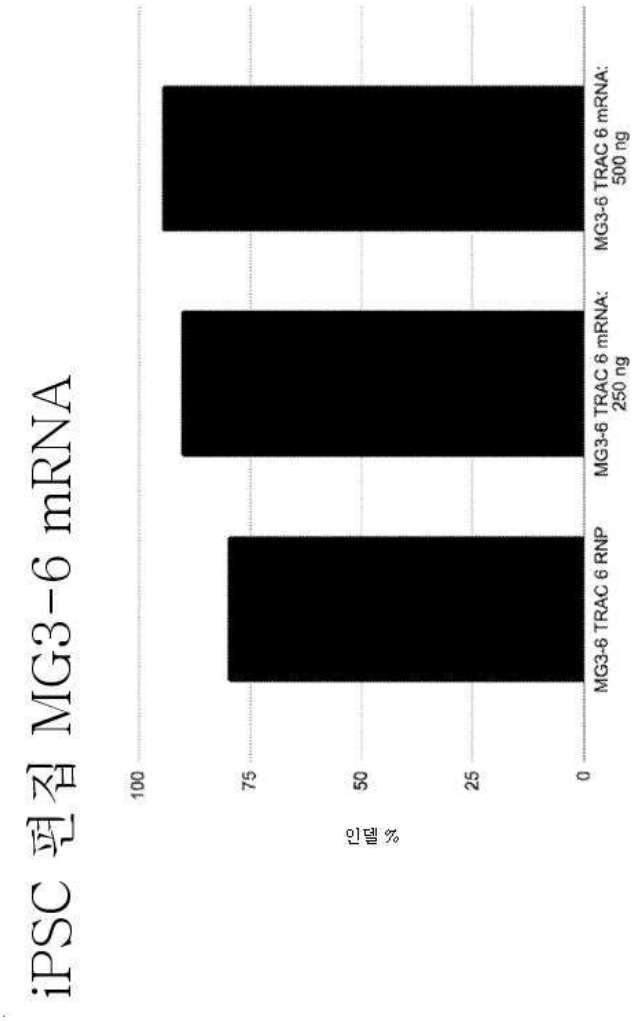
도면9



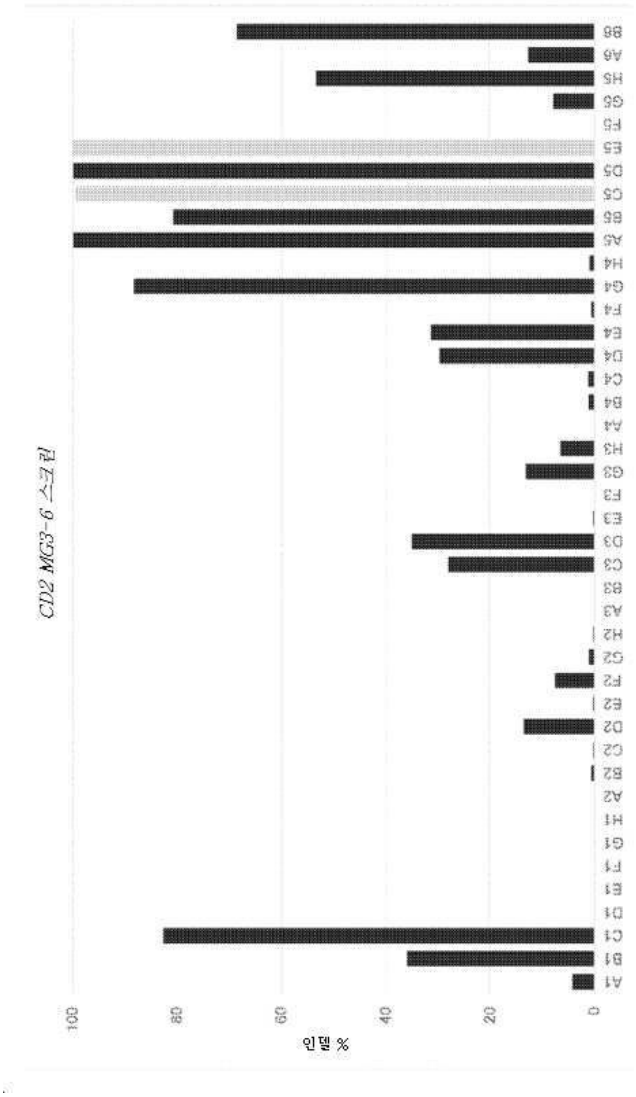
도면10


iPSC 편집 MG3-6 RNP
%LNGFR+
100
75
50
25
0
MG3-6 TRAC 6
MG3-6 TRAC 6 + AAV-6, MOI: 5E+03
MG3-6 TRAC 6 + AAV-6, MOI: 2.5E+04
MG3-6 TRAC 6 + AAV-6, MOI: 5E+04
AAV-6, MOI: 5E+04

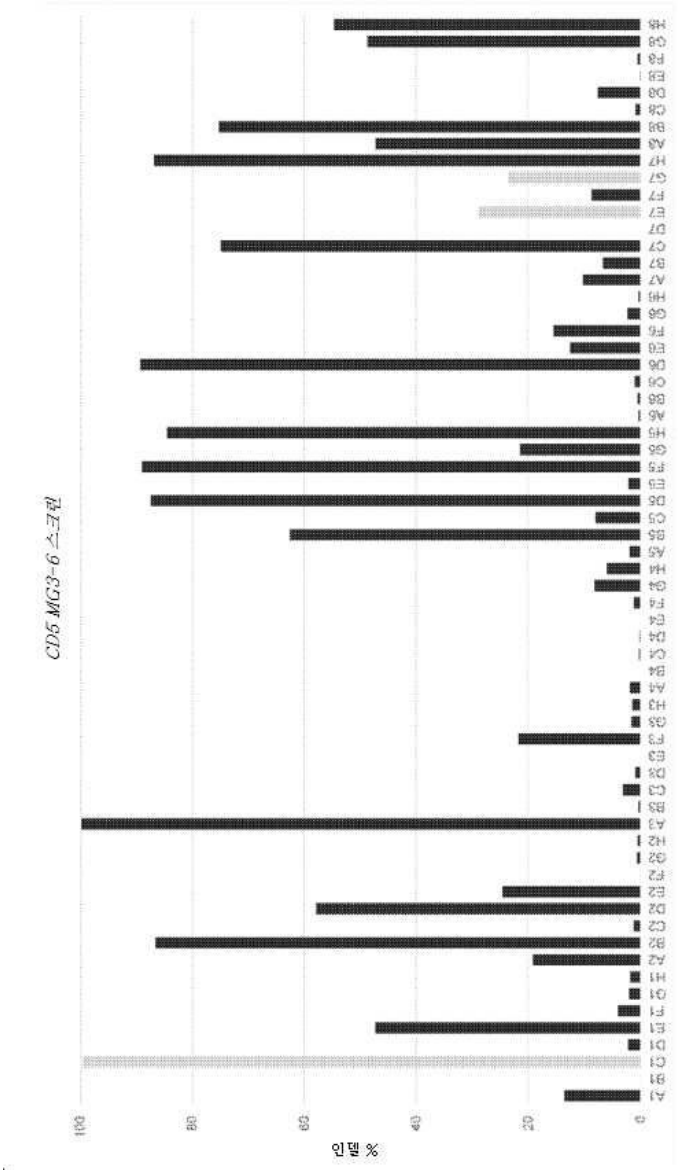
도면11


iPSC 편집 MG3-6 mRNA
100
75
50
25
0
인델 %
MG3-6 TRAC 6 RNP
MG3-6 TRAC 6 mRNA: 250 ng
MG3-6 TRAC 6 mRNA: 500 ng

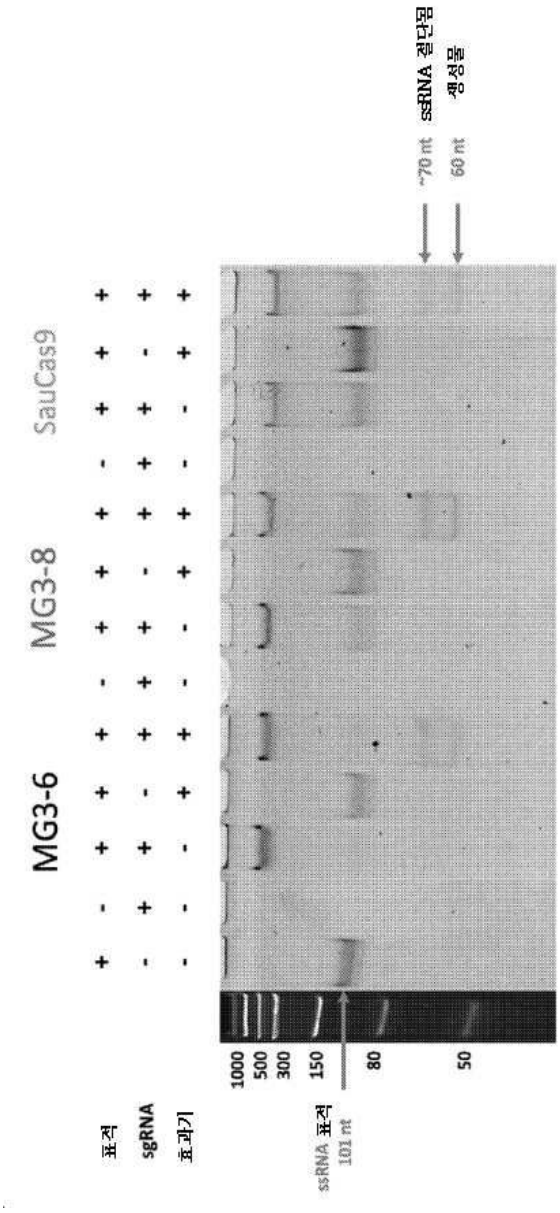
도면12


CD2 MG3-6-3-2컬
인델 %
100
80
60
40
20
0
A1
B1
C1
D1
E1
F1
G1
H1
A2
B2
C2
D2
E2
F2
G2
H2
A3
B3
C3
D3
E3
F3
G3
H3
A4
B4
C4
D4
E4
F4
G4
H4
A5
B5
C5
D5
E5
F5
G5
H5
A6
B6

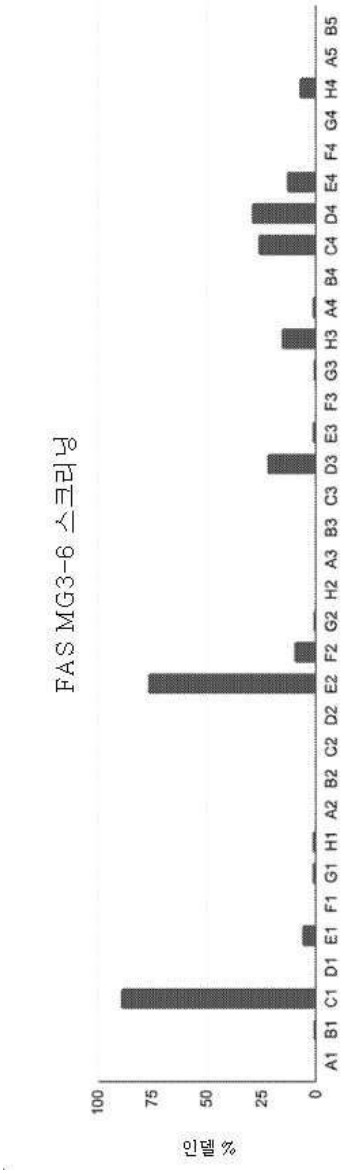
도면13



도면14


MG3-6
MG3-8
SauCas9
표적
sgRNA
표과기
1000
500
300
150
80
50
ssRNA 표적
101 nt
~78 nt
ssRNA 절단됨
68 nt
생성물

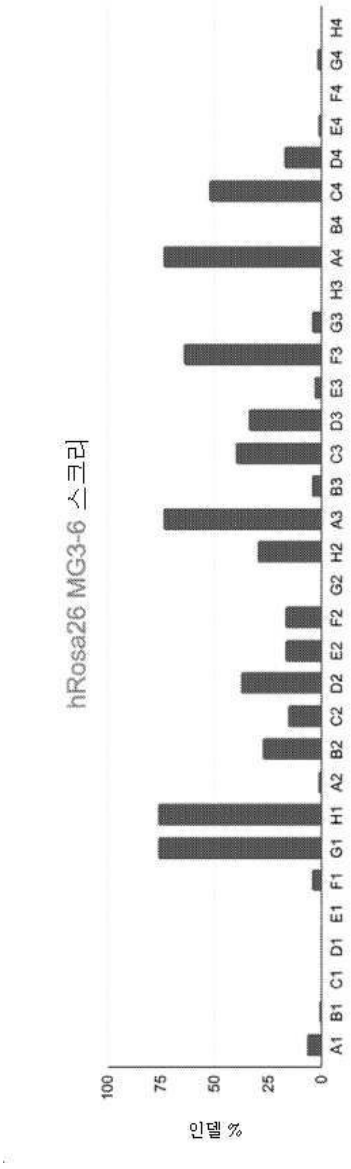
도면15


FAS MG3-6 스크리닝
인델 %
100
75
50
25
0
A1 B1 C1 D1 E1 F1 G1 H1 A2 B2 C2 D2 E2 F2 G2 H2 A3 B3 C3 D3 E3 F3 G3 H3 A4 B4 C4 D4 E4 F4 G4 H4 A5 B5

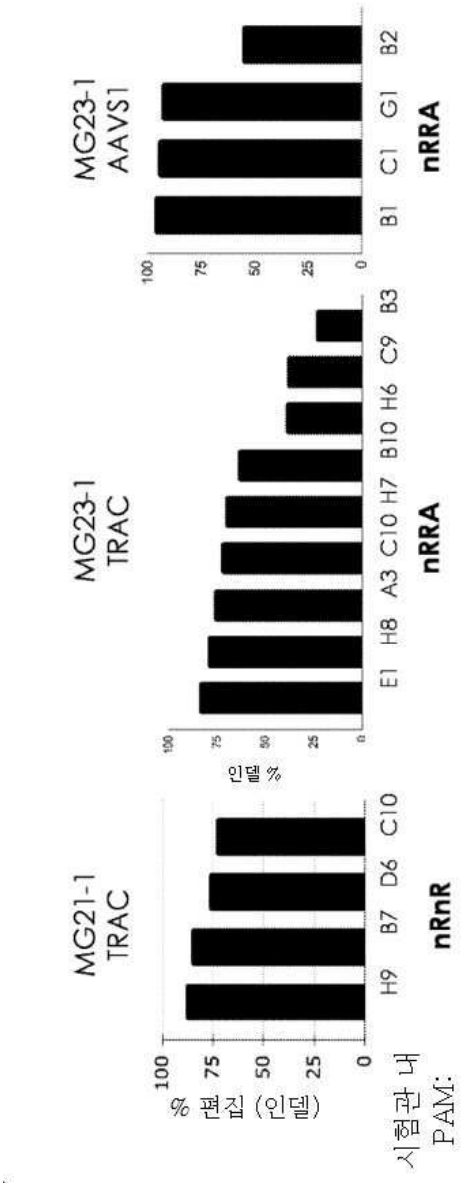
도면16


PD1 MG3-6 스크리닝
인델 %
100
75
50
25
0
A1 B1 C1 D1 E1 F1 G1 H1 A2 B2 C2 D2 E2 F2 G2 H2 A3 B3 C3 D3 E3 F3 G3 H3 A4 B4 C4 D4 E4 F4 G4 H4 A5 B5 C5 D5 E5 F5

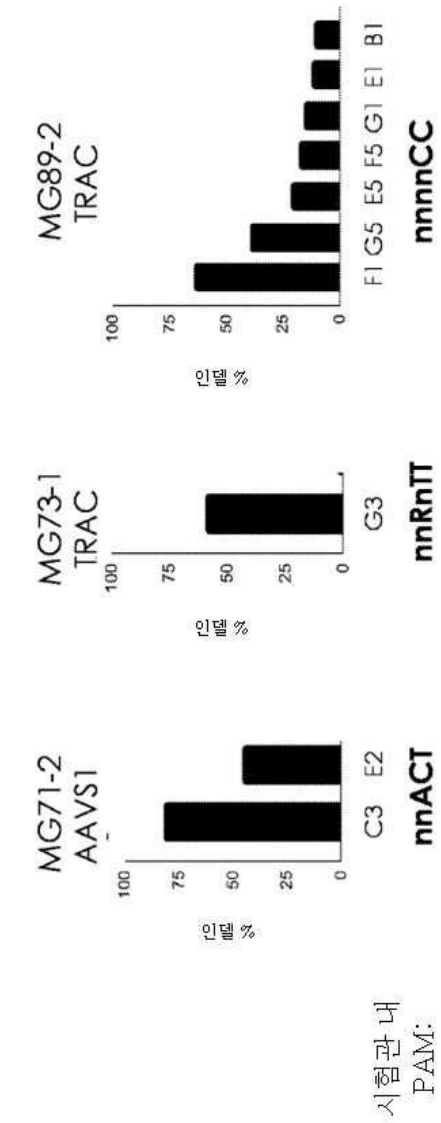
도면17


hRosa26 MG3-6 스크리
인델 %
100
75
50
25
0
A1 B1 C1 D1 E1 F1 G1 H1 A2 B2 C2 D2 E2 F2 G2 H2 A3 B3 C3 D3 E3 F3 G3 H3 A4 B4 C4 D4 E4 F4 G4 H4

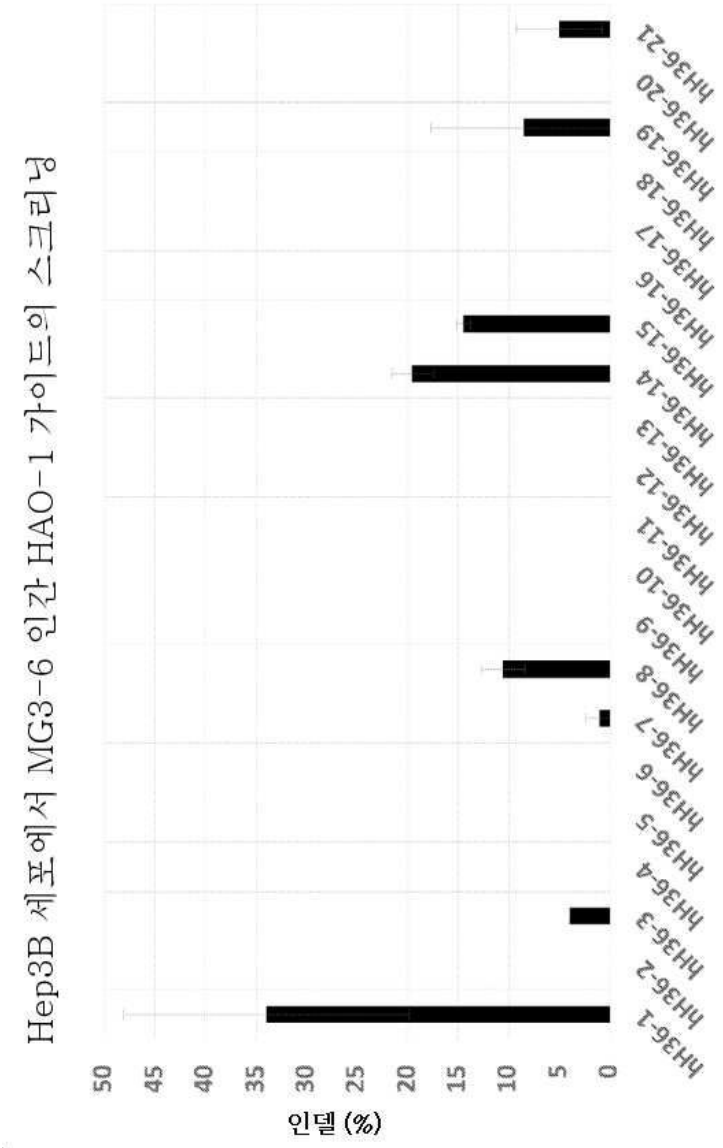
도면18a


MG21-1
TRAC
MG23-1
TRAC
MG23-1
AAVS1
% 편집 (인델)
인델 %
시험관 내
PAM:
nRnR
nRRA
nRRA
H9 B7 D6 C10
E1 H8 A3 C10 H7 B10 H6 C9 B3
B1 C1 G1 B2
0 25 50 75 100

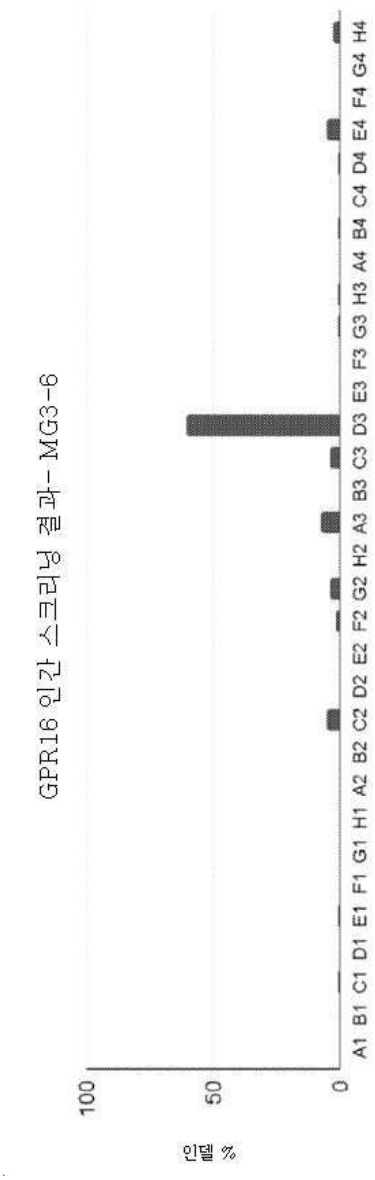
도면18b


MG89-2
TRAC
100
75
50
25
0
인델 %
F1 G5 E5 F5 G1 E1 B1
nnnnCC
MG73-1
TRAC
100
75
50
25
0
인델 %
G3
nnRnTT
MG71-2
AAVS1
100
75
50
25
0
인델 %
C3 E2
nnACT
시험관 내
PAM:

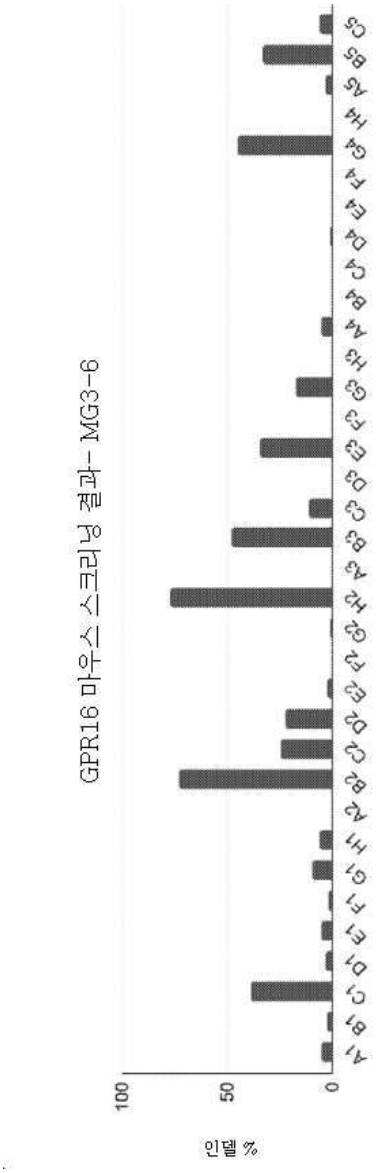
도면19


Hep3B 세포에서 MG3-6 인간 HAO-1 가이드의 스크리닝
인델 (%)
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
hHAO-1
hHAO-2
hHAO-3
hHAO-4
hHAO-5
hHAO-6
hHAO-7
hHAO-8
hHAO-9
hHAO-10
hHAO-11
hHAO-12
hHAO-13
hHAO-14
hHAO-15
hHAO-16
hHAO-17
hHAO-18
hHAO-19
hHAO-20
hHAO-21

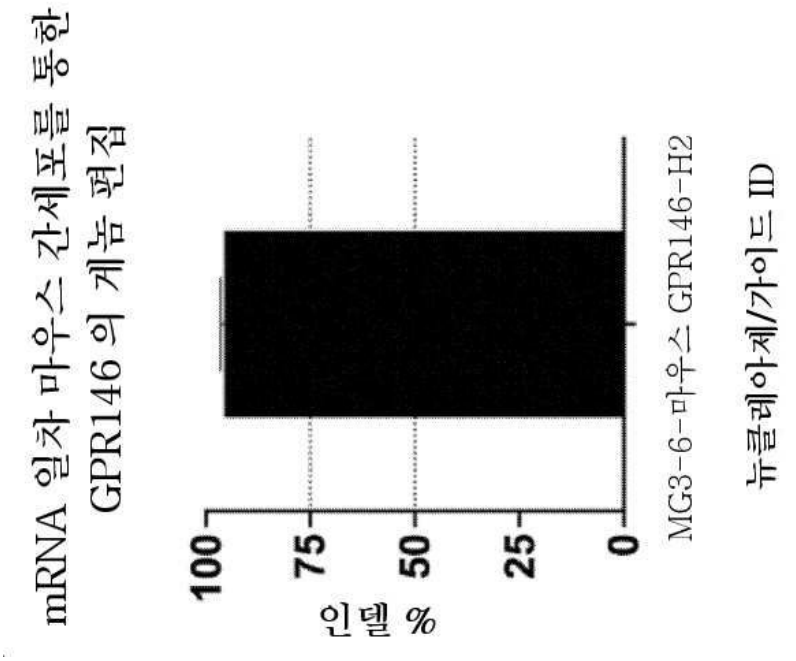
도면20


GPR16 인간 스크리닝 결과- MG3-6
인델 %
100
50
0
A1 B1 C1 D1 E1 F1 G1 H1 A2 B2 C2 D2 E2 F2 G2 H2 A3 B3 C3 D3 E3 F3 G3 H3 A4 B4 C4 D4 E4 F4 G4 H4

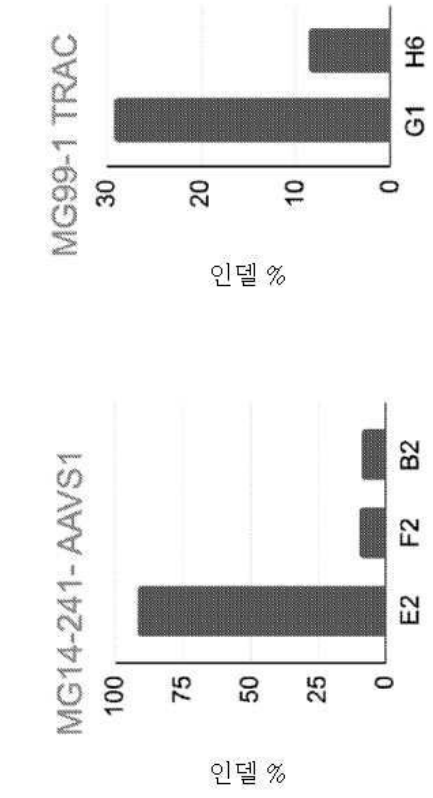
도면21


GPR16 마우스 스크리닝 결과- MG3-6
인델 %
100
50
0
A7
B7
C7
D7
E7
F7
G7
H7
A8
B8
C8
D8
E8
F8
G8
H8
A3
B3
C3
D3
E3
F3
G3
H3
A4
B4
C4
D4
E4
F4
G4
H4
A5
B5
C5

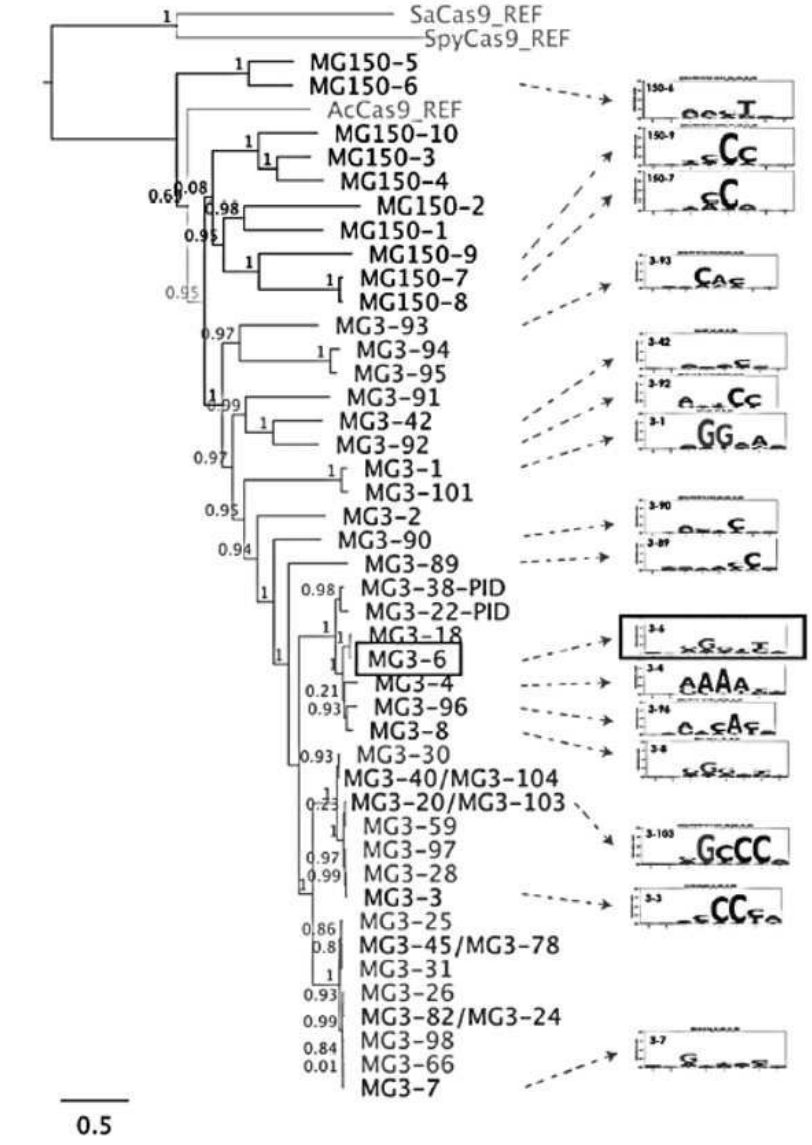
도면22


mRNA 일차 마우스 간세포를 통한
GPR146 의 게놈 편집
100
75
50
25
0
인델 %
MG3-6-마우스 GPR146-H2
뉴클레아제/가이드 ID

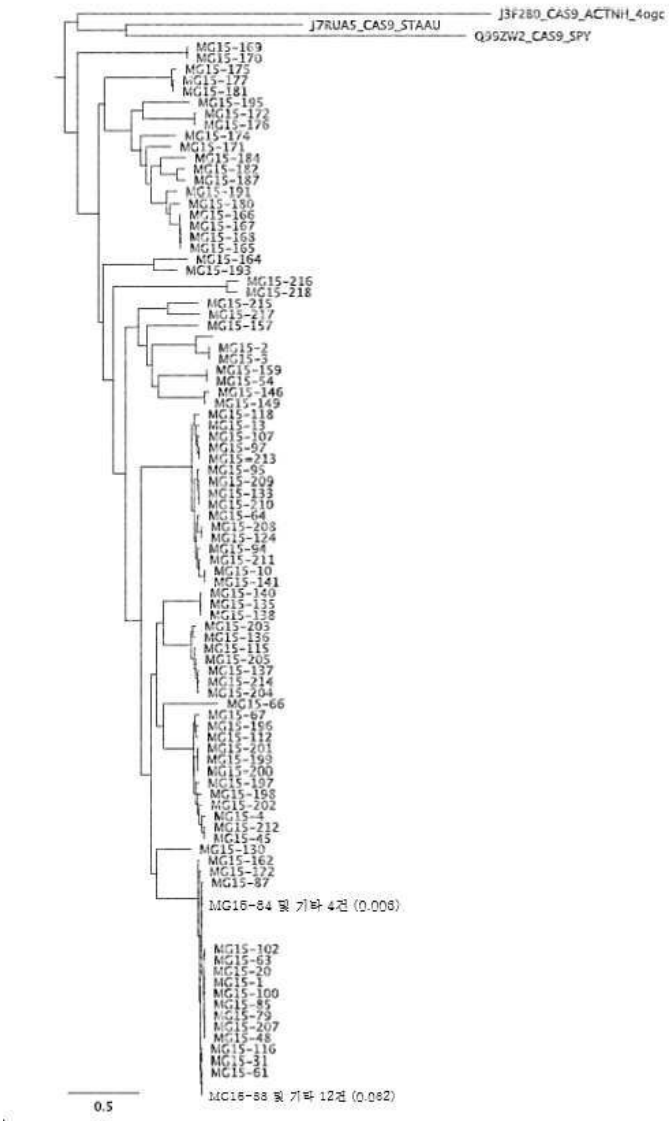
도면23


MG99-1 TRAC
30
20
10
0
G1
H6
인델 %
MG14-241-AAVS1
100
75
50
25
0
E2
F2
B2
인델 %

도면24

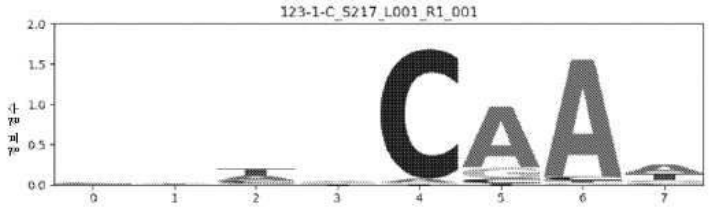

SaCas9_REF
SpyCas9_REF
MG150-5
MG150-6
AcCas9_REF
MG150-10
MG150-3
MG150-4
MG150-2
MG150-1
MG150-9
MG150-7
MG150-8
MG3-93
MG3-94
MG3-95
MG3-91
MG3-42
MG3-92
MG3-1
MG3-101
MG3-2
MG3-90
MG3-89
MG3-38-PID
MG3-22-PID
MG3-18
MG3-6
MG3-4
MG3-96
MG3-8
MG3-30
MG3-40/MG3-104
MG3-20/MG3-103
MG3-59
MG3-97
MG3-28
MG3-3
MG3-25
MG3-45/MG3-78
MG3-31
MG3-26
MG3-82/MG3-24
MG3-98
MG3-66
MG3-7
0.5

도면25

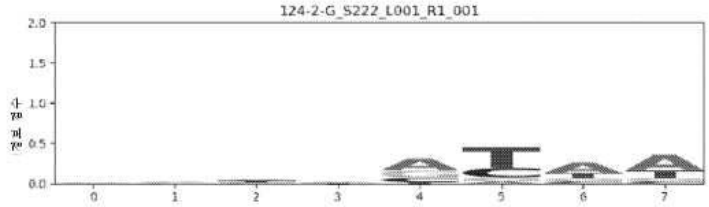

J3F2B0_CAS9_ACTNH_4ogc
J7RUA5_CAS9_STAAU
Q99ZW2_CAS9_SPY
MG15-169
MG15-170
MG15-175
MG15-177
MG15-181
MG15-195
MG15-172
MG15-176
MG15-174
MG15-171
MG15-184
MG15-182
MG15-187
MG15-191
MG15-180
MG15-166
MG15-167
MG15-168
MG15-165
MG15-164
MG15-193
MG15-216
MG15-218
MG15-215
MG15-217
MG15-157
MG15-2
MG15-3
MG15-159
MG15-54
MG15-146
MG15-149
MG15-118
MG15-13
MG15-107
MG15-97
MG15-213
MG15-95
MG15-209
MG15-133
MG15-210
MG15-64
MG15-208
MG15-124
MG15-94
MG15-211
MG15-10
MG15-141
MG15-140
MG15-135
MG15-138
MG15-203
MG15-136
MG15-115
MG15-205
MG15-137
MG15-214
MG15-204
MG15-66
MG15-67
MG15-196
MG15-112
MG15-201
MG15-199
MG15-200
MG15-197
MG15-198
MG15-202
MG15-4
MG15-212
MG15-45
MG15-130
MG15-162
MG15-172
MG15-87
MG16-84 및 기타 4건 (0.006)
MG15-102
MG15-63
MG15-20
MG15-1
MG15-100
MG15-85
MG15-79
MG15-207
MG15-48
MG15-116
MG15-31
MG15-61
MG16-88 및 기타 12건 (0.062)
0.5

도면26

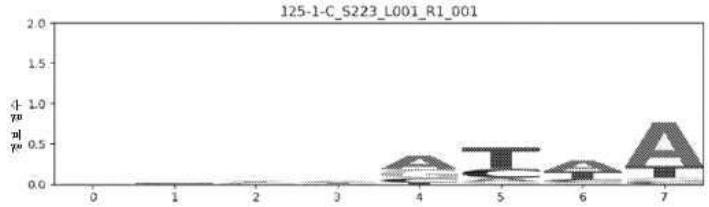
MG123-1



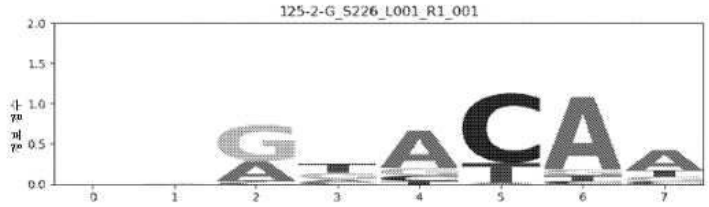
MG124-2



MG125-1

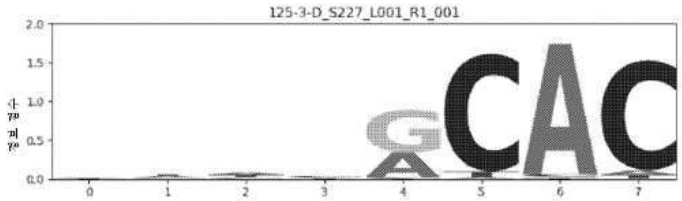


MG125-2

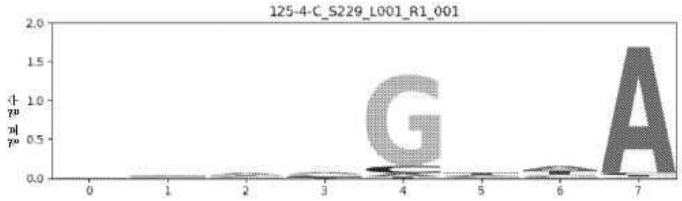


도면27

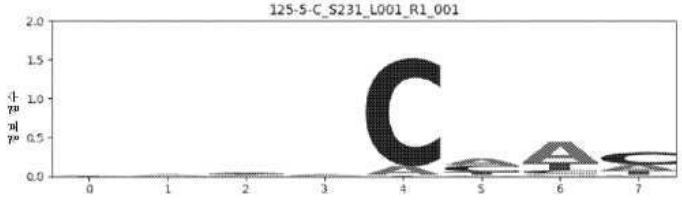
MG125-3



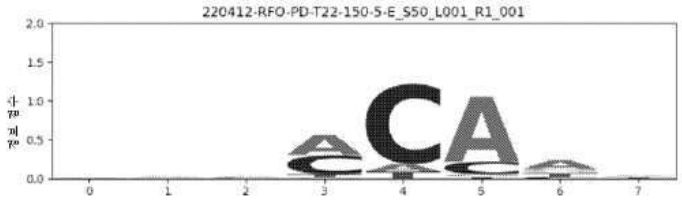
MG125-4



MG125-5

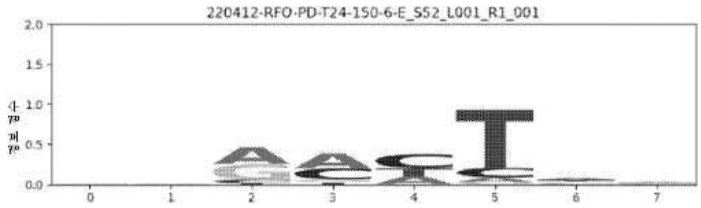


MG150-5

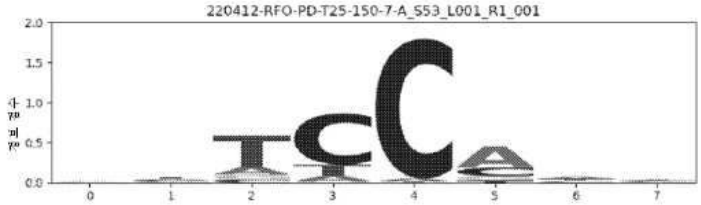


도면28

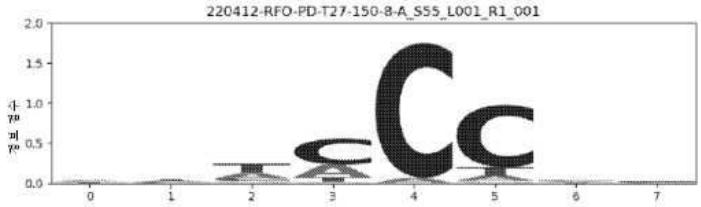
MG150-6



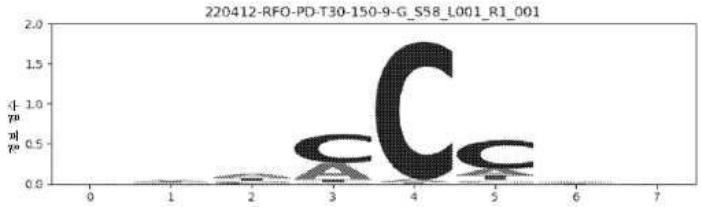
MG150-7



MG150-8

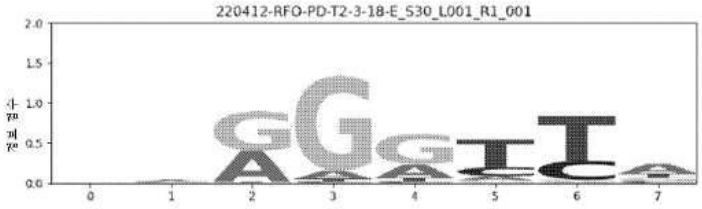


MG150-9

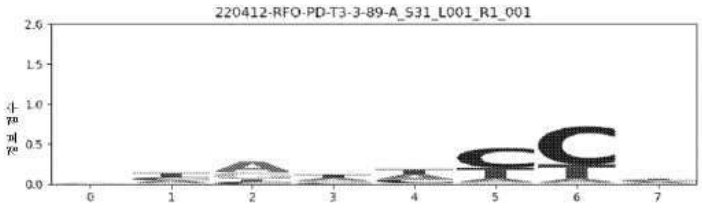


도면29

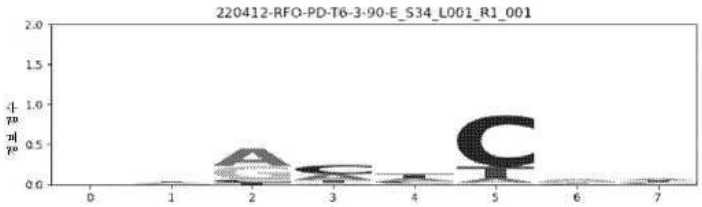
MG3-18



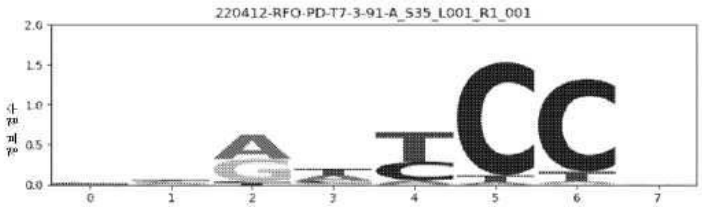
MG3-89



MG3-90

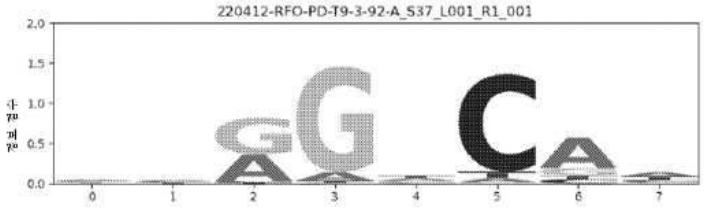


MG3-91

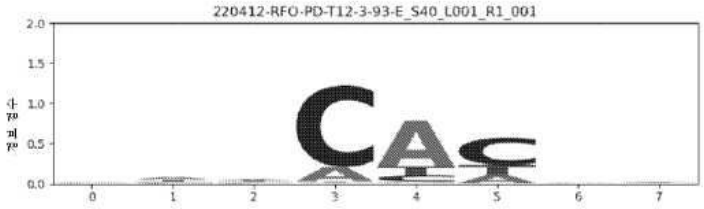


도면30

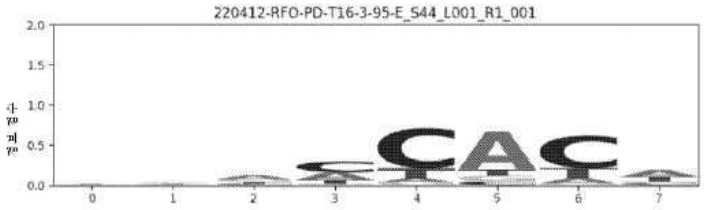
MG3-92



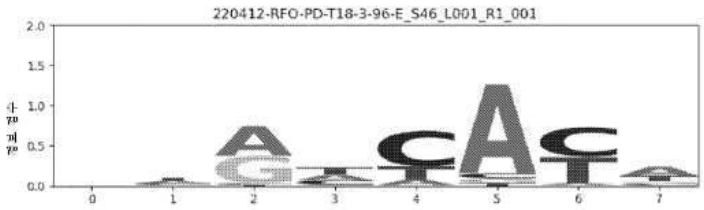
MG3-93



MG3-95

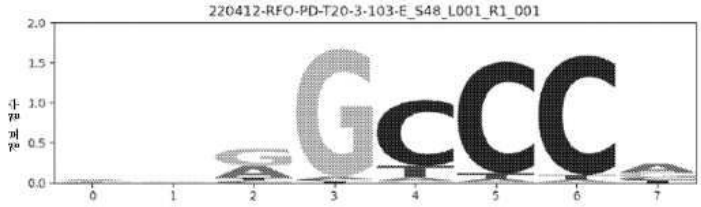


MG3-96

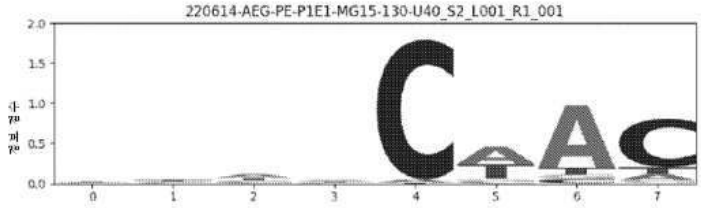


도면31

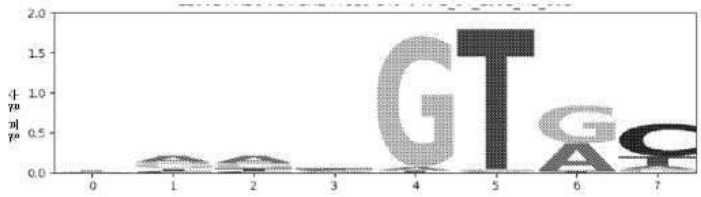
MG3-103



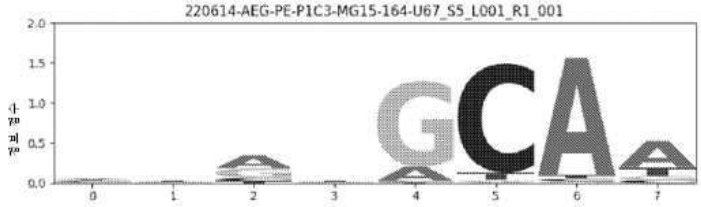
MG15-130



MG15-146

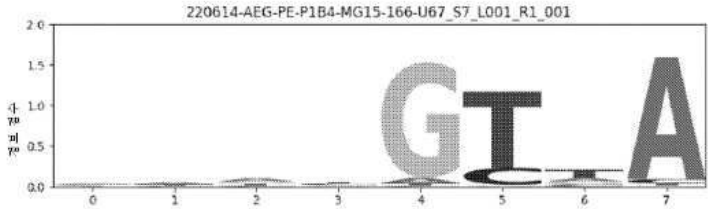


MG15-164

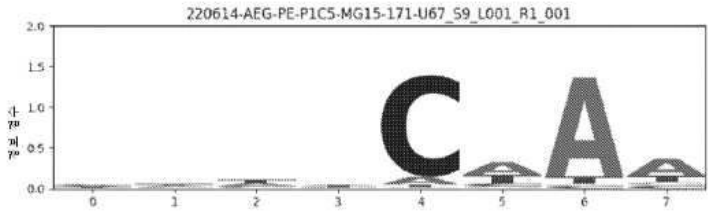


도면32

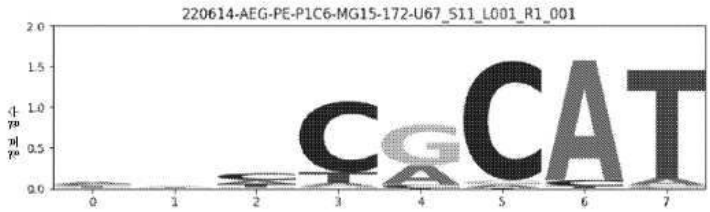
MG15-166



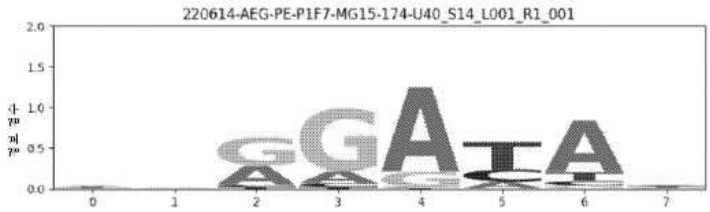
MG15-171



MG15-172

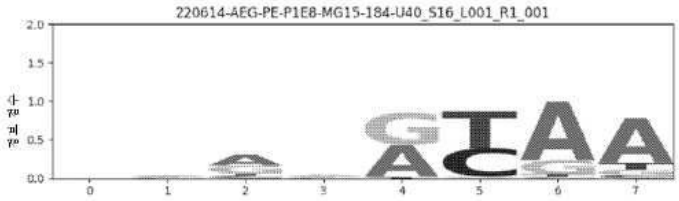


MG15-174

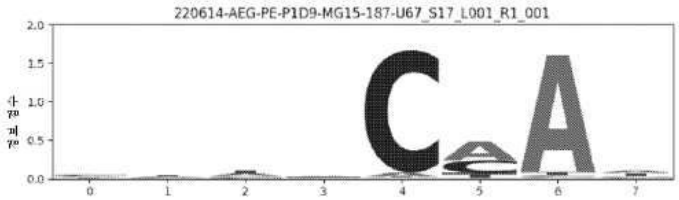


도면33

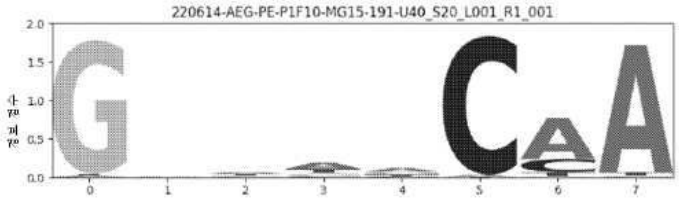
MG15-184



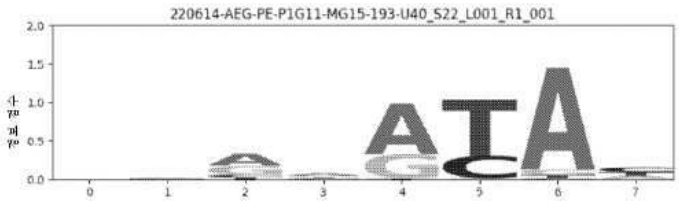
MG15-187



MG15-191

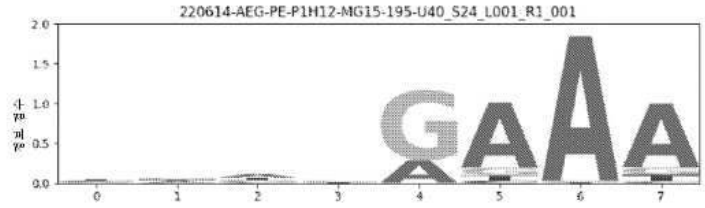


MG15-193

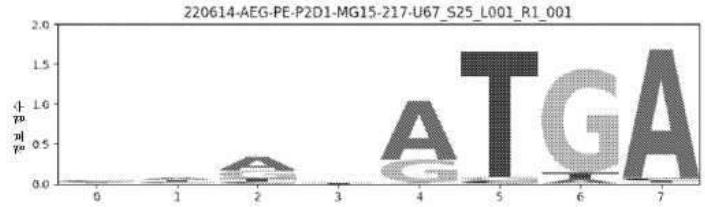


도면34

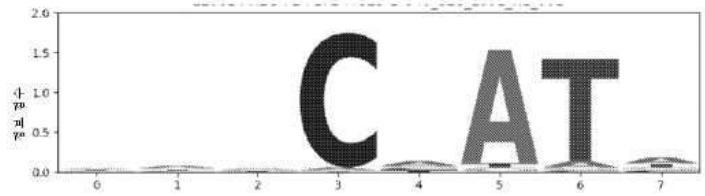
MG15-195



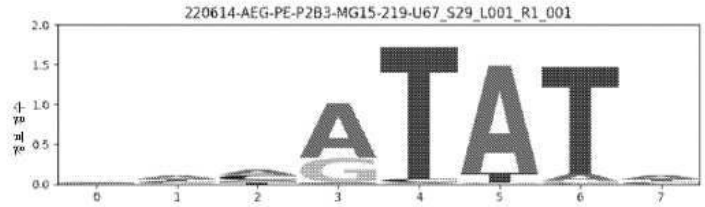
MG15-217



MG15-218

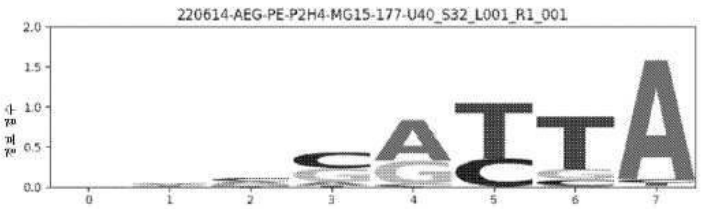


MG15-219



도면35

MG15-177



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.