POLINUCLEÓTIDOS, COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA LA EDICIÓN DEL GENOMA

La presente divulgación se refiere a polinucleótidos, composiciones y métodos para la edición del genoma que implican agentes de unión a ADN guiados por ARN tales como los sistemas CRISPR–Cas y sus subunidades.

Los agentes de unión a ADN guiados por ARN, como los sistemas CRISPR–Cas, pueden usarse para la edición del genoma dirigido, incluso en células eucariotas e in vivo. Se ha demostrado que dicha edición es capaz de inactivar ciertos alelos deletéreos o de corregir ciertas mutaciones puntuales deletéreas. El agente puede expresarse in situ proporcionando un ARNm que lo codifica. Sin embargo, los enfoques existentes pueden proporcionar menos eficiencia de edición que la deseada o pueden ser indeseablemente inmunogénicos, por ejemplo, pueden provocar una elevación indeseable en los niveles de citoquinas.

Por lo tanto, existe la necesidad de polinucleótidos, composiciones y métodos mejorados para la edición del genoma. El objetivo de la presente divulgación es proporcionar composiciones y métodos para la edición del genoma que brinden uno o más beneficios, como al menos uno de eficacia de edición mejorada o inmunogenicidad reducida (por ejemplo, reducción de la elevación de citoquinas tras la administración), o al menos proporcionar al público una elección útil. En algunas formas de realización, se proporciona un polinucleótido que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, en el que uno o más de su uso de codones, secuencia no codificante (por ejemplo, una UTR), dominio heterólogo (por ejemplo, NLS) y/o contenido de nucleótidos difiere de los polinucleótidos existentes de una manera descrita en el presente documento. Se ha encontrado que tales características pueden proporcionar beneficios tales como los descritos anteriormente. En algunas formas de realización, la eficacia de

edición mejorada se produce o es específica de un órgano o tipo de célula de un mamífero, como el hígado o los hepatocitos.

SÍNTESIS

La forma de realización 1 es un ARNm que comprende un marco de lectura abierto que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, en donde el marco de lectura abierto tiene un contenido de uridina que va de su mínimo contenido de uridina al 150% del mínimo contenido de uridina.

La forma de realización 2 es un ARNm que comprende un marco de lectura abierto que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, en donde el marco de lectura abierto tiene un contenido de dinucleótido de uridina que va de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina al 150% del mínimo contenido de dinucleótido de uridina.

La forma de realización 3 es un ARNm que comprende un marco de lectura abierto que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, en donde el marco de lectura abierto tiene un contenido de adenina que va de su mínimo contenido de uridina al 150% del mínimo contenido de adenina.

La forma de realización 4 es un ARNm que comprende un marco de lectura abierto que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, en donde el marco de lectura abierto un contenido de dinucleótido de adenina que va de su mínimo contenido de dinucleótido de adenina al 150% del mínimo contenido de dinucleótido de adenina.

La forma de realización 5 es un ARNm que comprende una secuencia con al menos el 90% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175, en donde el ARNm comprende un marco de lectura abierto que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN.

La forma de realización 6 es un ARNm que comprende un marco de lectura abierto que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, en donde el marco de lectura abierto tiene al menos el 90% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175 respecto de al menos sus primeros 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 ó 300 nucleótidos.

La forma de realización 7 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el marco de lectura abierto consiste en un grupo de codones de los cuales al menos el 75% de los codones son (i) codones enumerados en la Tabla 1, Tabla 2 o Tabla 3 o (ii) un grupo de codones enumerados en la Tabla 4.

La forma de realización 8 es un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, en donde el marco de lectura abierto consiste en un grupo de codones de los cuales al menos el 75% de los codones son codones enumerados en la Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3 o (ii) un grupo de codones enumerados en la Tabla 4.

La forma de realización 9 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en donde el marco de lectura abierto consiste en un grupo de codones de los cuales al menos el 75% de los codones son codones U 1 bajos establecidos en la Tabla 4.

La forma de realización 10 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en donde el marco de lectura abierto consiste en un grupo de codones de los cuales al menos el 75% de los codones son codones A bajos establecidos en la Tabla 4.

La forma de realización 11 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en donde el marco de lectura abierto consiste en un grupo de codones de los

cuales al menos el 75% de los codones son codones A/U bajos establecidos en la Tabla 4.

La forma de realización 12 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en donde el marco de lectura abierto consiste en un grupo de codones de los cuales al menos el 75% de los codones son codones de larga vida media establecidos en la Tabla 4.

La forma de realización 13 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7–12, en donde al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o 100% de los codones son (i) codones enumerados en la Tabla 1, Tabla 2 o Tabla 3 o (ii) un grupo de codones enumerados en la Tabla 4.

La forma de realización 14 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–5 ó 7–13, en donde el marco de lectura abierto tiene al menos el 90% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175 respecto de al menos sus primeros 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 ó 300 nucleótidos.

La forma de realización 15 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el marco de lectura abierto tiene al menos el 90% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175 respecto de al menos sus primeros 10%, 12%, 15%, 20%, 25%, 30% o 35% de su secuencia.

La forma de realización 16 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–4 ó 6–15, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 90% de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65 o 66 ó 107–175.

La forma de realización 17 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el marco de lectura abierto tiene un contenido de dinucleótido de uridina que va de su mínimo contenido de

dinucleótido de uridina al 101%, 102%, 103%, 105%, 110%, 115%, 120%, 125%, 130%, 135%, 140%, 145% o 150% del mínimo contenido de dinucleótido de uridina.

La forma de realización 18 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el marco de lectura abierto tiene un contenido de uridina que va de su mínimo contenido de uridina al 101%, 102%, 103%, 105%, 110%, 115%, 120%, 125%, 130%, 135%, 140%, 145% o 150% del mínimo contenido de uridina.

La forma de realización 19 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el marco de lectura abierto tiene un contenido de adenina que va de su mínimo contenido de uridina al 101%, 102%, 103%, 105%, 110%, 115%, 120%, 125%, 130%, 135%, 140%, 145% o 150% del mínimo contenido de adenina.

La forma de realización 20 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el marco de lectura abierto un contenido de dinucleótido de adenina que va de su mínimo contenido de dinucleótido de adenina al 101%, 102%, 103%, 105%, 110%, 115%, 120%, 125%, 130%, 135%, 140%, 145% o 150% del mínimo contenido de dinucleótido de adenina.

La forma de realización 21 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende un 5’ UTR con al menos el 90% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 32, 34, 36, 38, 41 o 75–77.

La forma de realización 22 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende a 3’ UTR con al menos el 90% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 33, 35, 37, 39 ó 40.

La forma de realización 23 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 21 ó 22, en donde el ARNm comprende un 5’ UTR y un 3’ UTR de la misma fuente.

La forma de realización 24 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende un cierre 5’ seleccionado de Cap0, Cap1 y Cap2.

La forma de realización 25 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el marco de lectura abierto tiene codones que incrementan la traducción del ARNm en un mamífero.

La forma de realización 26 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el marco de lectura abierto tiene codones que incrementan la traducción del ARNm en un órgano específico de un mamífero.

La forma de realización 27 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 26, en donde el órgano es el hígado.

La forma de realización 28 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, en donde el mamífero es un ser humano.

La forma de realización 29 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 25 a 28, en donde los codones incrementan la traducción del ARNm en el mamífero respecto de la traducción de un ARNm que comprende un ORF con una secuencia que consiste en SEQ ID NO: 5.

La forma de realización 30 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde, cuando el ARNm se administra a un mamífero en una composición farmacéutica, el mamífero exhibe una respuesta a citoquina al menos 5 veces menor que un mamífero administrado con un ARNm que comprende un ORF que codifica una Cas9 nucleasa con más del 150% del mínimo contenido de uridina.

La forma de realización 31 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 30, en donde el ARNm que comprende el ORF que codifica la Cas9 nucleasa con más del 150% del mínimo contenido de uridina tiene una secuencia que consiste en SEQ ID NO: 5.

La forma de realización 32 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el agente de unión a ADN guiado por ARN tiene actividad de endonucleasa bicatenaria.

La forma de realización 33 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 32, en donde el agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una Cas cleavasa.

La forma de realización 34 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el agente de unión a ADN guiado por ARN tiene activida de nickasa.

La forma de realización 35 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 34, en donde el agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una Cas nickasa.

La forma de realización 36 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–31, en donde el agente de unión a ADN guiado por ARN comprende un dominio de unión a dCas ADN.

La forma de realización 37 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 33 o 35–36, en donde la Cas cleavasa, Cas nickasa o dominio de unión a dCas ADN es una Cas9 cleavasa, Cas9 nickasa o un doominio de unión a dCas9 ADN.

La forma de realización 38 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el agente de unión a ADN guiado por ARN codificado comprende una señal de localización nuclear (NLS).

La forma de realización 39 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 38, en donde la NLS se liga con el término C del agente de unión a ADN guiado por ARN.

La forma de realización 40 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 38, en donde la NLS se liga con el término N del agente de unión a ADN guiado por ARN.

La forma de realización 41 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 38–40, en donde la NLS comprende una secuencia que tiene al menos el 80%, 85%, 90% o 95% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 78–91.

La forma de realización 42 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 38–40, en donde la NLS comprende la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 78–91.

La forma de realización 43 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 38–42, en donde la NLS está codificada por una secuencia que tiene al menos el 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 100% de identidad con la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 92–104.

La forma de realización 44 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 4, 7 ó 9.

La forma de realización 45 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 95% de identidad con SEQ ID NO: 4, 7 ó 9.

La forma de realización 46 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 98% de identidad con SEQ ID NO: 4, 7 ó 9.

La forma de realización 47 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia 100% igual a la SEQ ID NO: 4, 7 ó 9.

La forma de realización 48 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 111, 114 ó 117.

La forma de realización 49 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 95% de identidad con SEQ ID NO: 111, 114 ó 117.

La forma de realización 50 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 98% de identidad con SEQ ID NO: 111, 114 ó 117.

La forma de realización 51 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia 100% igual a la SEQ ID NO: 112, 122 ó 125.

La forma de realización 52 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 112, 122 ó 125.

La forma de realización 53 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 95% de identidad con SEQ ID NO: 112, 122 ó 125.

La forma de realización 54 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

La forma de realización 55 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 95% de identidad con SEQ ID NO: 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

La forma de realización 56 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 98% de identidad con SEQ ID NO: 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

La forma de realización 57 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–43, en donde el ARNm comprende una secuencia 100% igual a la SEQ ID NO: 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

La forma de realización 58 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 37–57, en donde el ARNm codifica un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, 6, 8 ó 186–196.

La forma de realización 59 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el agente de unión a ADN guiado por ARN también comprende un dominio funcional heterólogo.

La forma de realización 60 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 59, en donde el dominio funcional heterólogo es una FokI nucleasa.

La forma de realización 61 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 59, en donde el dominio funcional heterólogo es un dominio regulador de la transcripción.

La forma de realización 62 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde, cuando una cantidad eficaz del ARNm se administra a un mamífero junto con un ARN guía que se dirige al gen TTR del mamífero en una composición farmacéutica que comprende nanopartículas de lípidos, se forma un indel en el locus TTR en al menos 50% del ADN genómico obtenido de hepatocitos del mamífero.

La forma de realización 63 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde, cuando una cantidad eficaz del ARNm se administra a un mamífero junto con un ARN guía que se dirige al gen TTR del mamífero en una composición farmacéutica que comprende nanopartículas de lípidos, la concentración de TTR sérico del mamífero se reduce en al menos un 50%.

La forma de realización 64 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde al menos el 10% de la uridina está sustituido con una uridina modificada.

La forma de realización 65 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 64, en donde la uridina modificada es una o más de N1–metil–pseudouridina, pseudouridina, 5–metoxiuridina o 5–yodouridina.

La forma de realización 66 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 64, en donde la uridina modificada es una o ambas de N1–metil–pseudouridina o 5–metoxiuridina.

La forma de realización 67 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 64, en donde la uridina modificada es N1–metil–pseudouridina.

La forma de realización 68 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 64, en donde la uridina modificada es 5–metoxiuridina.

La forma de realización 69 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 64–68, en donde 15% al 45% de la uridina está sustituido con la uridina modificada.

La forma de realización 70 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 64–68, en donde al menos el 20% o al menos el 30% de la uridina está sustituido con la uridina modificada.

La forma de realización 71 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 70, en donde al menos el 80% o al menos el 90% de la uridina está sustituido con la uridina modificada.

La forma de realización 72 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 70, en donde 100% de uridina está sustituido con la uridina modificada.

La forma de realización 73 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 64–72, en donde, cuando una cantidad eficaz del ARNm se administra a un mamífero junto con un ARN guía que se dirige al gen TTR del

mamífero en una composición farmacéutica que comprende nanopartículas de lípidos, se forma un indel en el locus TTR en al menos el 70% o al menos el 90% del ADN genómico obtenido de hepatocitos del mamífero.

La forma de realización 74 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 64–73, en donde, cuando el ARNm se administra a un mamífero junto con un ARN guía que se dirige al gen TTR del mamífero en una composición farmacéutica que comprende nanopartículas de lípidos, la concentración de TTR sérico del mamífero se reduce en al menos un 70% o al menos 90%.

La forma de realización 75 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 62, 63, 71 ó 72, en donde el animal es un ratón y el ARN guía tiene una secuencia que consiste en SEQ ID NO: 42.

La forma de realización 76 es el ARNm de acuerdo con la reivindicación 62, 63, 71 ó 72, en donde el animal es una rata y el ARN guía tiene una secuencia que consiste en SEQ ID NO: 69.

La forma de realización 77 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 90% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 43, 44, 51, 53, 55–61 ó 176–185.

La forma de realización 78 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 95% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 43, 44, 51, 53, 55–61 ó 176–185.

La forma de realización 79 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 98% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 43, 44, 51, 53, 55–61 ó 176–185.

La forma de realización 80 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el ARNm comprende una secuencia con al menos el 99% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 43, 44, 51, 53, 55–61 ó 176–185.

La forma de realización 81 es el ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el ARNm comprende una secuencia con el 100% de identidad con cualquiera de SEQ ID NOs: 43, 44, 51, 53, 55–61 ó 176–185.

La forma de realización 82 es un constructo de expresión que comprende un promotor operativamente ligado con una secuencia que codifica un ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

La forma de realización 83 es un plásmido que comprende el constructo de expresión de acuerdo con la reivindicación 82.

La forma de realización 84 es una célula huésped que comprende el constructo de expresión de acuerdo con la reivindicación 82 o el plásmido de acuerdo con la reivindicación 83.

La forma de realización 85 es un método para preparar un ARNm que comprende poner en contacto el constructo de expresión de acuerdo con la reivindicación 82 o el plásmido de acuerdo con la reivindicación 83 con una ARN polimerasa en condiciones que permitan la transcripción del ARNm.

La forma de realización 86 es el método de acuerdo con la reivindicación 85, en donde la etapa de contacto se lleva a cabo in vitro.

La forma de realización 87 es una composición que comprende un ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–81 y al menos un ARN guía.

La forma de realización 88 es una nanopartícula lipídica que comprende un ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–81.

La forma de realización 89 es una composición farmacéutica que comprende un ARNm de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–81 y un portador farmacéuticamente aceptable.

La forma de realización 90 es la nanopartícula lipídica de acuerdo con la reivindicación 88 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 89, que también comprende al menos un ARN guía.

La forma de realización 91 es la composición o nanopartícula lipídica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 87–90, en donde el al menos un ARN guía se dirige a TTR.

La forma de realización 92 es un método de edición de genoma o modificación de un gen diana que comprende poner en contacto una célula con el ARNm, constructo de expresión, composición o nanopartícula lipídica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–83 ó 87–91.

La forma de realización 93 es el uso del ARNm, constructo de expresión, composición o nanopartícula lipídica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–83 ó 87–91 para edición de genomas o modificación de un gen diana.

La forma de realización 94 es el uso del ARNm, constructo de expresión, composición o nanopartícula lipídica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–83 ó 87–91 para la fabricación de un medicamento para edición de genomas o modificación de un gen diana.

La forma de realización 95 es el método o uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 92–94, en donde la edición de genomas o modificación del gen diana se produce en una célula hepática.

La forma de realización 96 es el método o uso de acuerdo con la reivindicación 95, en donde la célula hepática es un hepatocito.

La forma de realización 97 es el método o uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 92–96, en donde la edición de genomas o modificación del gen diana es in vivo.

La forma de realización 98 es el método o uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 92–97, en donde la edición de genomas o modificación del gen diana es en una célula aislada o cultivada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS DESCRIPTAS

SEQ ID NO	**Descripción**
1	Secuencia codificadora de ADN de Cas9 usando el análogo de timidina de los codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada
2	Secuencia codificadora de ADN de Cas9 usando codones con expresión generalmente alta en seres humanos.
3	Secuencia de aminoácidos de Cas9 con una señal de localización nuclear (1xNLS) como los 7 aminoácidos C–terminales
4	ORF de ARNm Cas9 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada
5	ORF de ARNm Cas9 usando codones con expresión generalmente alta en seres humanos. con codones de inicio y de parada
6	Secuencia de aminoácidos de nickasa Cas9 con 1xNLS como los 7 aminoácidos C–terminales
7	ORF de ARNm nickasa Cas9 que codifica la SEQ ID NO: 6 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada

8	Secuencia de aminoácidos de dCas9 con 1xNLS como los 7 aminoácidos C–terminales
9	ORF de ARNm Cas9 que codifica la SEQ ID NO: 8 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada
10	secuencia codificadora de ARNm Cas9 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
11	Secuencia codificadora de ARNm Cas9 nickasa usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
12	Secuencia codificadora de ARNm Cas9 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
13	Secuencia de aminoácidos de Cas9 (sin NLS)
14	ORF de ARNm Cas9 que codifica SEQ ID NO: 13 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada
15	Secuencia codificadora de Cas9 que codifica SEQ ID NO: 13 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
16	Secuencia de aminoácidos de nickasa Cas9 (sin NLS)

17	ORF de ARNn nickasa Cas9 que codifica SEQ ID NO: 16 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada
18	Secuencia codificadora de nickasa Cas9 que codifica SEQ ID NO: 16 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
19	Secuencia de aminoácidos de dCas9 (sin NLS)
20	ORF de ARNm dCas9 que codifica SEQ ID NO: 13 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada
21	Secuencia codificadora de dCas9 que codifica SEQ ID NO: 13 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
22	Secuencia de aminoácidos de Cas9 con dos señales de localización nuclear (2xNLS) como los aminoácidos C–terminales
23	ORF de ARNm Cas9 que codifica SEQ ID NO: 13 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada
24	Secuencia codificadora de Cas9 que codifica SEQ ID NO: 13 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de

	fusión.)
25	Secuencia de aminoácidos de nickasa Cas9 con dos señales de localización nuclear como los aminoácidos C–terminales
26	ORF de ARNn nickasa Cas9 que codifica SEQ ID NO: 16 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada
27	Secuencia codificadora de nickasa Cas9 que codifica SEQ ID NO: 16 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
28	Secuencia de aminoácidos de dCas9 con dos señales de localización nuclear como los aminoácidos C–terminales
29	ORF de ARNm dCas9 que codifica SEQ ID NO: 13 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada
30	Secuencia codificadora de dCas9 que codifica SEQ ID NO: 13 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
31	Promotor T7
32	5’ UTR de beta globina humana
33	3’ UTR de beta globina humana
34	5’ UTR de alfa globina humana
35	3’ UTR de alfa globina humana
36	5’ UTR de beta globina *Xenopus laevis*

37	3’ UTR de beta globina *Xenopus laevis*
38	5’ UTR hormona de crecimiento bovina
39	3’ UTR hormona de crecimiento bovina
40	Hemoglobina alfa, cadena de adulto 1 (Hba–a1), 3’UTR Mus musculus
41	5’ UTR HSD17B4
42	ARN guía simple G282 dirigido al gen de TTR de ratón
43	Transcripto de Cas9 con 5’ UTR de HSD, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak, y 3’ UTR de ALB
44	Transcripto de Cas9 con 5’ UTR de HSD, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 4, y 3’ UTR de ALB
45	ORF Cas9 alternativo con contenido U 19,36%
46	Transcripto de Cas9 con 5’ UTR de HSD, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 45, secuencia de Kozak, y 3’ UTR de ALB
47	Transcripto de Cas9 con 5’ UTR de HSD, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 45, y 3’ UTR de ALB
48	Transcripto de Cas9 que comprende ORF Cas9 usando codones con expresión generalmente alta en seres humanos.
49	Transcripto de Cas9 que comprende secuencia de Kozak con ORF Cas9 usando codones con expresión generalmente alta en seres humanos.
50	ORF Cas9 con uniones de empalme eliminadas; con contenido de U 12,75%
51	Transcripto de Cas9 con 5’ UTR de HSD, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 50, secuencia de Kozak, y

	3’ UTR de ALB
52	ORF Cas9 con codones de uridina mínimos frecuentemente usados en seres humanos en general; contenido de U 12,75%
53	Transcripto de Cas9 con 5’ UTR de HSD, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 52, secuencia de Kozak, y 3’ UTR de ALB
54	ORF Cas9 con codones de uridina mínimos poco frecuentemente usados en seres humanos en general; contenido de U 12,75%
55	Transcripto de Cas9 con 5’ UTR de HSD, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 54, secuencia de Kozak, y 3’ UTR de ALB
56	Transcripto de Cas9 con AGG como primeros tres nucleótidos para usar con CleanCap™, 5’ UTR de HSD, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak, y 3’ UTR de ALB
57	Transcripto de Cas9 con 5’ UTR de CMV, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak, y 3’ UTR de ALB
58	Transcripto de Cas9 con 5’ UTR de HBB, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak, y 3’ UTR de HBB
59	Transcripto de Cas9 con 5’ UTR de XBG, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak, y 3’ UTR de XBG
60	Transcripto de Cas9 con AGG como primeros tres

	nucleótidos para usar con CleanCap™, 5’ UTR de XBG, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak, y 3’ UTR de XBG
61	Transcripto de Cas9 con AGG como primeros tres nucleótidos para usar con CleanCap™, 5’ UTR de HSD, ORF correspondiente a la SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak, y 3’ UTR de ALB
62	30/30/39 secuencia poli–A
63	Secuencia poli–A 100
64	ARN guía único G209 dirigido al gen TTR de ratón
65	ORF que codifica Neisseria meningitidis Cas9 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada
66	ORF que codifica Neisseria meningitidis Cas9 usando codones de uridina mínimos enumerados en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
67	Transcripto que comprende SEQ ID NO: 65 (que codifica Neisseria meningitidis Cas9)
68	Secuencia de aminoácidos de Neisseria meningitidis Cas9
69	ARN guía único G390 que se dirige al gen TTR de rata
70	ARN guía único G502 que se dirige al gen TTR de mono cynomolgus
71	ARN guía único G509 que se dirige al gen TTR de mono cynomolgus
72	ARN guía simple G534 que se dirige al gen TTR de rata
73	Secuencia codificadora de ADN de eGFP

74	Patrón ARNsg modificado
75	5’ UTR CMV–1
76	5’ UTR CMV–2
77	5’ UTR CMV–3
78	SV40 NLS
79	Ejemplo de NLS 1
80	Ejemplo de NLS 2
81	Ejemplo de NLS 3
82	Ejemplo de NLS 4
83	Ejemplo de NLS 5
84	Ejemplo de NLS 6
85	Ejemplo de NLS 7
86	Ejemplo de NLS 8
87	Ejemplo de NLS 9
88	Ejemplo de NLS 10
89	Ejemplo de NLS 11
90	NLS SV40 alternada
91	NLS Nucleoplasmina
92	Ejemplo de secuencia codificadora para SV40 NLS
93	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS1
94	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS2
95	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS3
96	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS4
97	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS5
98	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS6
99	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS7

100	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS8
101	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS9
102	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS10
103	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS11
104	Ejemplo de secuencia codificadora para NLS SV40 alternada
105	Ejemplo de secuencia de Kozak
107	ORF Cas9 usando codones de vida media larga de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada
108	ORF Cas9 usando codones ricos en U de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada
109	ORF Cas9 usando codones G bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada
110	ORF Cas9 usando codones C bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada
111	ORF Cas9 usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada
112	ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada
113	ORF Cas9 usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal y codones de inicio y de parada
114	nickasa ORF Cas9 usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada
115	nickasa ORF Cas9 usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada and no NLS
116	nickasa ORF Cas9 usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal y codones de inicio y de parada

117	ORF dCas9 usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada
118	ORF dCas9 usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada and no NLS
119	ORF dCas9 usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal y codones de inicio y de parada
120	ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal y codones de inicio y de parada
121	ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada y sin NLS
122	nickasa ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada
123	nickasa ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal y codones de inicio y de parada
124	nickasa ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada and no NLS
125	ORF dCas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada
126	ORF dCas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal y codones de inicio y de parada
127	ORF dCas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada and no NLS
128	ORF Cas9 Nme usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada
129	ORF Cas9 Nme usando codones A/U bajos de la Tabla 4,

	con codones de inicio y de parada
130	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS1, con codones de inicio y de parada
131	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS2, con codones de inicio y de parada
132	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS3, con codones de inicio y de parada
133	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS4, con codones de inicio y de parada
134	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS5, con codones de inicio y de parada
135	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS6, con codones de inicio y de parada
136	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS7, con codones de inicio y de parada
137	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS8, con codones de inicio y de parada
138	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS9, con codones de inicio y de parada
139	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS10, con codones de inicio y de parada
140	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS11, con codones de inicio y de parada
141	ORF Cas9 usando codones con expresión generalmente alta en seres humanos (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)

142	ORF Cas9 usando codones de vida media larga de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
143	ORF Cas9 usando codones ricos en U de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
144	ORF Cas9 usando codones G bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
145	ORF Cas9 usando codones C bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
146	ORF Cas9 usando codones A bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
147	ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
148	ORF Cas9 usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
149	nickasa ORF Cas9 usando codones A bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)

150	nickasa ORF Cas9 usando codones A bajos de la Tabla 4 (no NLS y sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
151	nickasa ORF Cas9 usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
152	ORF dCas9 usando codones A bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
153	ORF dCas9 usando codones A bajos de la Tabla 4 (no NLS y sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
154	ORF dCas9 usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
155	ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
156	ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (sin NLS y sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)

157	nickasa ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
158	nickasa ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
159	nickasa ORF Cas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (no NLS y sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
160	ORF dCas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
161	ORF dCas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias NLS C–terminal (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
162	ORF dCas9 usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (no NLS y sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
163	ORF Cas9 Nme usando codones A bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
164	ORF Cas9 Nme usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (sin

	codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
165	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS1 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
166	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS2 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
167	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS3 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
168	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS4 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
169	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS5 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
170	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS6 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
171	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS7 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
172	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS8 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
173	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS9 (sin codones

	de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
174	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS10 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
175	Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS11 (sin codones de inicio o de parada; adecuado para su inclusión en la secuencia codificadora de la proteína de fusión.)
176	transcripto de ARNm con UTR XBG y ORF Cas9 con codones U 1 bajos de la Tabla 4
177	transcripto de ARNm con UTR XBG y ORF Cas9 con codones A bajos de la Tabla 4
178	transcripto de ARNm con UTR XBG y ORF Cas9 con los codones U/A bajos de la Tabla 4
179	transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con marca HiBiT, 5’ UTR HSD y 3’ UTR ALB humano
180	transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con marca HiBiT, 5’ UTR CMV–1 y 3’ UTR ALB humano
181	transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con marca HiBiT, 5’ UTR CMV–2 y 3’ UTR ALB humano
182	transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con marca HiBiT, 5’ UTR CMV–3 y 3’ UTR ALB humano
183	transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con marca HiBiT, HBA 5’ UTR y 3’ UTR ALB humano
184	transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con marca HiBiT, HBB 5’ UTR y 3’ UTR ALB humano
185	transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con marca

	HiBiT, XBG 5’ UTR y 3’ UTR ALB humano
186	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS1
187	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS2
188	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS3
189	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS4
190	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS5
191	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS6
192	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS7
193	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS8
194	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS9
195	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS10
196	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS11

Ver la Tabla de secuencias a continuación para las secuencias mismas. Las secuencias del transcripto generalmente incluyen GGG como los tres primeros nucleótidos para uso con ARCA o AGG como los tres primeros nucleótidos para uso con CleanCap™. Por consiguiente, los tres primeros nucleótidos se pueden modificar para su uso con otros enfoques de terminación, tal como la enzima de terminación Vaccinia. Los promotores y las secuencias de poli–A no se incluyen en las secuencias de transcriptos. Un promotor tal como un promotor T7 (SEQ ID NO: 31) y una secuencia poli–A tal como la SEQ ID NO: 62 o 63 se pueden adjuntar a las secuencias del transcripto descriptas en los extremos 5 'y 3', respectivamente. La mayoría de las secuencias de nucleótidos se proporcionan como ADN, pero se pueden convertir fácilmente en ARN mediante el cambio de T por N.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las FIG. 1A–1D muestra niveles de IFN alfa, IL–6, TNF alfa y MCP–1 después de la administración de PBS o de las formulaciones de nanopartículas de lípidos (LNP) LNP417–LNP421 a 0,5 o 1 mg/kg (mpk).

Las FIGs. 2A–2B muestran los niveles séricos de TTR y el porcentaje de edición hepática después de la administración de la formulación de PBS o LNP LNP417–LNP421 a 0,5 o 1 mpk.

La FIG. 3 muestra los rendimientos de la transcripción in vitro (IVT) para la transcripción de constructos de ADN Cas9. La transcripción se realizó con uridina–5'–trifosfato sin modificar (UTP) o con N1–metil–pseudo–UTP solo (0 en el eje horizontal), mezclado con una proporción indicada de 5–metoxi UTP (20–80 en el eje horizontal), o con 100% 5–metoxi UTP (100). Para cada conjunto de tres barras, la barra izquierda usó N1–metil–pseudo–UTP y/o 5–metoxi UTP y SEQ ID NO: 2; la barra central utilizó UTP sin modificar y/o 5–metoxi UTP y SEQ ID NO: 2; y la barra derecha usó UTP sin modificar y/o 5 metoxi UTP y la SEQ ID NO: 1.

La FIG. 4 muestra la pureza del ARNm de los resultados de la transcripción in vitro (IVT) para los constructos de ADN Cas9 (SEQ ID NO: 2) y Cas9 optimizado (SEQ ID NO: 1) . La transcripción se realizó a partir de la secuencia Cas9 de la SEQ ID NO: 2 con uridina–5'–trifosfato no modificado (UTP) (cuadrados) o con N1–metil–pseudo–UTP (círculos oscuros) solo (0) o mezclado con una proporción indicada de 5–metoxi UTP (20–80), o con 100% de 5–metoxi UTP (100). La transcripción se realizó a partir de la secuencia Cas9 de SEQ ID NO: 1 (círculos claros) con UTP no modificada (0) o mezclada con una proporción indicada de 5–metoxi UTP (20–80), o con 100% de 5–metoxi UTP (100). Cada secuencia codificadora incluyó una señal de localización nuclear.

Las FIG. 5A–5D muestran resultados de transferencia de puntos de anticuerpos anti–ARNds. Los resultados son con el control de ARN de doble cadena (A), Cas9 transcripto en presencia de UTP y/o 5–metoxi UTP (B), secuencia de ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 4 transcripta en presencia de UTP y/o 5–metoxi UTP (C), y Cas9 transcripta en presencia de N1–metil–pseudo–UTP y/o 5–metoxi UTP (D). Los paneles (B) – (D) se realizaron con transcriptos que contienen de 0% a 100% de 5–metoxi UTP y de 100% a 0% de UTP o N1–metil UTP.

Las FIG. 6A y 6B muestran la eficiencia de edición in vitro de los ARNm en células Neuro 2A tratadas con ARNm Cas9, presentadas como porcentaje de edición (A) o edición de EC50 (B). Se evaluó el efecto del aumento de las concentraciones de 5–metoxi–UTP en el ARNm Cas9. La transcripción se realizó a partir de la secuencia Cas9 de la SEQ ID NO: 2 con N1–metil–pseudo–UTP (serie izquierda en A; círculos oscuros en B) o con uridina–5'–trifosfato no modificada (UTP) (serie central en A; cuadrados en B) solos (0) o mezclados con una proporción indicada de 5–metoxi UTP (20–80), o con 100% de 5–metoxi UTP (100). La transcripción se realizó a partir de la secuencia Cas9 de la SEQ ID NO: 1 (serie derecha en A; círculos claros en B) con UTP no modificada (0) o mezclada con una proporción indicada de 5–metoxi UTP (20–80), o con 100 % 5–metoxi UTP (100). Cada secuencia codificadora incluyó una señal de localización nuclear.

Las FIGs. 7A–7D presentan niveles séricos de citoquinas 4 horas después de la dosis para formulaciones de LNP LNP720–LNP724. El asterisco en la FIG. 7A indica que al menos una medición individual estaba por debajo del límite de detección.

Las FIGs. 8A y 8B presentan niveles séricos de TTR (A) y porcentaje de edición de TTR en el hígado (B) a los 7 días después de la dosis con formulaciones de

LNP LNP720–LNP724. El asterisco en la FIG. 8A indica que al menos una medición individual estaba por debajo del límite de detección.

La FIG. 9 muestra el porcentaje de edición de *TTR* en el bazo a 7 días pos–dosificación con formulaciones de LNP LNP720–LNP724 a 1 mpk.

FIG. 10 muestra el porcentaje de edición de *TTR* en hepatocitos de ratón primarios (PMH) con formulaciones de LNP LNP720–LNP724 y LNP685.

Las FIG. 11A y 11B muestran los niveles séricos de TTR después de la dosificación de formulaciones que comprenden ARNm Cas9 en las que los ORF tenían secuencias de SEQ ID NO: 5 ó 4. Los datos de TTR se presentan como niveles séricos (A) o porcentajes relativos a los niveles de TTR en animals tratados con TSS (B).

La FIG. 12 muestra el porcentaje de edición de *TTR* en hígado después de la dosificación de formulaciones que comprenden ARNm Cas9 en las que los ORF tenían la secuencia de la SEQ ID NO: 5 ó 4 a 5 mpk o 2 mpk.

Las FIG. 13A–E muestran niveles de TTR séricos y porcentaje de edición de TTR en hígado después de la dosificación de las formulaciones de LNP indicadas.

La FIG. 14 muestra el porcentaje de edición de TTR en hepatocitos primarios de ratón (PMH) tratados con 0,3, 1, 3 ó 10 ng de LNP815–821, 823, or 824.

Las FIG. 15A–B muestran niveles de TTR séricos después de la dosificación de las formulaciones de LNP indicadas un ARNm Cas9 en las que los ORF tenían la secuencia de SEQ ID NO: 5 ó 4 en las relaciones y cantidades de Guía:Cas9 indicadas.

Las FIG. 16A–B muestran el porcentaje de edición de TTR en hígado después de la dosificación de las formulaciones de LNP indicadas a ARNm Cas9

en las que los ORF tenían la secuencia de SEQ ID NO: 5 ó 4 en las relaciones y cantidades de Guía:Cas9 indicadas.

Las FIG. 17A–B muestran el porcentaje de edición de TTR en bazo después de la dosificación de las formulaciones de LNP indicadas a ARNm Cas9 en las que los ORF tenían la secuencia de SEQ ID NO: 5 ó 4 en las relaciones y cantidades de Guía:Cas9 indicadas.

La FIG. 18 muestra una transferencia para la expresión de Cas9 en hígado después de la dosificación de las formulaciones de LNP indicadas a ARNm Cas9 en las que los ORF tenían la secuencia de SEQ ID NO: 5 ó 4 en las relaciones de Guía:Cas9 indicadas.

Las FIG. 19A–B muestran niveles de TTR séricos después de la dosificación de las formulaciones de LNP indicadas en las cantidades indicadas.

La FIG. 20 muestra el porcentaje de edición de TTR en hígado después de la dosificación de las formulaciones de LNP indicadas en las cantidades indicadas.

Las FIG. 21A–C muestran niveles de edición en hígado (A) y TTR séricos (B en µg/ml; C como porcentaje de control TSS) después de la dosificación de las formulaciones de LNP indicadas en las cantidades indicadas.

Las FIG. 22A–D muestran resultados de TTR séricos y edición después de la dosificación de formulaciones de LNP en las relaciones y cantidades indicadas.

La FIG. 23 muestra la expresión de la proteína Cas9 en células Hep2G después del tratamiento con ARNm Cas9 en las que los ORF tenían la secuencia de la SEQ ID NO indicada.

La FIG. 24 muestra el porcentaje de edición en células HepG2 después del tratamiento con ARNm Cas9 en las que los ORF tenían la secuencia de la SEQ ID NO indicada en las concentraciones indicadas.

La FIG. 25 muestra la expresión de Cas9 en hígado después de la dosificación de formulaciones de LNP con ARNm Cas9 en las que los ORF tenían la secuencia de la SEQ ID NO indicada.

La FIG. 26 muestra los resultados de edición en vivo en el locus de TTR después de la dosificación de formulaciones de LNP con ARNm Cas9 en las que los ORF tenían la secuencia de la SEQ ID NO indicada.

Las FIG. 27A–B muestran TTR sérico (A) y TTR sérico (%TSS) (B) después de la dosificación de formulaciones de LNP con ARNm Cas9 en las que los ORF tenían la secuencia de la SEQ ID NO indicada.

La FIG. 28 muestra la edición en hígado *in vivo* después de la dosificación de formulaciones de LNP con ARNm Cas9 en las que los ORF tenían la secuencia de la SEQ ID NO indicada en las cantidades indicadas.

Las FIG. 29A–B muestran niveles de TTR séricos (A) y TTR sérico (%TSS) (B) después de la dosificación de formulaciones de LNP con ARNm Cas9 en las que los ORF tenían la secuencia de la SEQ ID NO indicada en las cantidades indicadas.

Las FIG. 30A–B muestran niveles de TTR séricos (A) y % de edición en el hígado (B) después de la dosificación de formulaciones de LNP con ARNm Cas9 en que los transcriptos tenían la secuencia de la SEQ ID NO indicada.

La FIG. 31 muestra el porcentaje de edición de TTR en el hígado después de la dosificación con LNP formulados con ARNm que tienen el capuchón indicado y secuencia del transcripto a las dosis indicadas.

La FIG. 32 muestra los niveles de TTR séricos después de la dosificación con LNP formulados con ARnm que tienen el capuchón indicado y la secuencia del transcripto en las cantidades indicadas.

La FIG. 33 muestra el porcentaje de edición de TTR e el hígado después de la dosificación con LNP formulado con ARNm que codifica Cas9 en el que los

ORF tenían la secuencia de la SEQ ID NO indicada, que incluyen una NLS como se indica.

Las FIGs. 34A–B muestran niveles de TTR séricos (A) y TTR sérico (%TSS) (B) después de la dosificación con LNP formulados con ARNm que codifica Cas9 en el que los ORF tenían la secuencia de la SEQ ID NO indicada, que incluyen una NLS como se indica.

La FIG. 35 muestra la correlación de la actividad de NLS y la eficiencia de edición después de la dosificación con LNPs formulados con ARNm que codifican Cas9 e incluyen secuencias de NLS de varias clases y niveles de actividad. La FIG. 36 muestra los niveles de expresión de la proteína Cas9 en células HepG2 a partir de transcriptos de ARNm que tienen las secuencias indicadas y las 5’ UTR según se indica.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS FORMAS DE REALIZACIÓN

Ahora se hará referencia en detalle a ciertas formas de realización de la invención, cuyos ejemplos se ilustran en los dibujos acompañantes. Aunque la invención se describirá junto con las formas de realización ilustradas, se entenderá que no pretenden limitar la invención a esas formas de realización. Por el contrario, se considera que la invención cubre todas las alternativas, modificaciones y equivalentes, que se pueden incluir dentro de la invención como se define en las reivindicaciones adjuntas.

Antes de describir en detalle las presentes enseñanzas, se debe entender que la descripción no se limita a composiciones o etapas del proceso específicas, ya que puede variar. Cabe señalar que, tal como se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, la forma singular "un", "una" y "el/la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. En consecuencia por ejemplo, la referencia a "un conjugado" incluye

una pluralidad de conjugados y la referencia a "una célula" incluye una pluralidad de células y similares.

Los rangos numéricos incluyen los números que definen el rango. Los valores medidos y medibles se entienden como aproximados, teniendo en cuenta los dígitos significativos y el error asociado con la medición. Además, el uso de “comprender”, “comprende”, “que comprende”, “contener”, “contiene”, “que contiene”, “incluir”, “incluye”, y “que incluye” no pretende ser limitante. Se debe entender que tanto la descripción general anterior como la detallada son ejemplos y explicaciones solamente y no son restrictivas de las enseñanzas.

El término "aproximadamente" o "en forma aproximada" significa un error aceptable para un valor particular determinado por un experto en la técnica, que depende en parte de cómo se mide o determina el valor, o un grado de variación que no afectan sustancialmente las propiedades del tema descripto, por ejemplo, dentro del 10%, 5%, 2% o 1%. En consecuencia, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en la siguiente memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar de acuerdo con las propiedades deseadas que se buscan obtener. Como mínimo, y no como un intento de limitar la aplicación de la doctrina de equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada parámetro numérico se debe interpretar al menos a la luz del número de dígitos significativos informados y mediante la aplicación de técnicas de redondeo ordinarias.

A menos que se indique específicamente en la memoria descriptiva anterior, las formas de realización en la memoria descriptiva que mencionan "que comprende" varios componentes también se contemplan como "que consiste en" o "que consiste esencialmente en" los componentes mencionados; las formas de realización en la memoria descriptiva que mencionan "consistir en" varios componentes también se contemplan como "que comprenden" o "que consisten

esencialmente en" los componentes mencionados; y las formas de realización en la memoria descriptiva que citan "que consiste esencialmente en" varios componentes también se contemplan como "que consiste en" o "que comprenden" los componentes mencionados (esta intercambiabilidad no se aplica al uso de estos términos en las reivindicaciones).

Los títulos de la sección usados en la presente son solo para fines organizativos y no se deben interpretar como limitantes del tema deseado de ninguna manera. En el caso de que cualquier bibliografía incorporada por referencia contradiga el contenido expreso de esta memoria descriptiva, que incluyen, pero sin limitación, una definición, rige el contenido expreso de esta memoria descriptiva. Si bien las presentes enseñanzas se describen en conjunto con varias formas de realización, no se pretende que las presentes enseñanzas se limiten a tales formas de realización. Por el contrario, las presentes enseñanzas abarcan diversas alternativas, modificaciones y equivalentes, como apreciarán los expertos en la técnica.

Definiciones

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos y frases, como se usan en la presente, tienen los siguientes significados:
El término "o sus combinaciones" como se usa en la presente se refiere a todas las permutaciones y combinaciones de los términos enumerados que preceden al término. Por ejemplo, "A, B, C, o sus combinaciones" pretende incluir al menos uno de:A, B, C, AB, AC, BC o ABC, y si el orden es importante en un contexto particular, también BA, CA, CB, ACB, CBA, BCA, BAC o CAB. Continuando con este ejemplo, se incluyen expresamente las combinaciones que contienen repeticiones de uno o más elementos o términos, tal como BB, AAA, AAB, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB y similares. El experto en la técnica entenderá

que normalmente no hay límite en el número de elementos o términos en cualquier combinación, a menos que el contexto lo demuestre de otra manera.

Como se usa en la presente, el término "kit" se refiere a un conjunto envasado de componentes relacionados, tales como uno o más polinucleótidos o composiciones y uno o más materiales relacionados, tales como dispositivos de administración (por ejemplo, jeringas), solventes, soluciones, buffers, instrucciones, o desecantes.

"O" se utiliza en el sentido inclusivo, es decir, equivalente a "y/o", a menos que el contexto requiera lo contrario.

"Polinucleótido" y "ácido nucleico" se usan en la presente para referirse a un compuesto multimérico que comprende nucleósidos o análogos de nucleósidos que tienen bases nitrogenadas heterocíclicas o análogos de bases unidos entre sí a lo largo de un esqueleto, que incluye ARN convencional, ADN, ARN–ADN mixto, y polímeros que son análogos de estos. Un "esqueleto" de ácido nucleico puede estar formado por una variedad de uniones, que incluyen una o más uniones azúcar–fosfodiéster, uniones péptido–ácido nucleico ("ácidos nucleicos peptídicos" o PNA; PCT N.º WO 95/32305), fosforotioato, uniones de metilfosfonato, o sus combinaciones. Los restos de azúcar de un ácido nucleico pueden ser ribosa, desoxirribosa o compuestos similares con sustituciones, por ejemplo, 2' metoxi o 2' haluro. Las bases nitrogenadas pueden ser bases convencionales (A, G, C, T, U), análogos de estos (por ejemplo, uridinas modificadas tales como 5–metoxiuridina, pseudouridina o N^1–metilpseudouridina u otras); inosina; derivados de purinas o pirimidinas (por ejemplo, N^4–metil desoxiguanosina, deaza o aza–purinas, deaza o aza–pirimidinas, bases de pirimidina con grupos sustituyentes en la posición 5 o 6 (por ejemplo, 5–metilcitosina), bases de purina con sustituyente en las posiciones 2, 6 u 8, 2–amino–6–metilaminopurina, O^6–metilguanina, 4–tio–pirimidinas, 4–amino–

pirimidinas, 4–dimetilhidrazina–pirimidinas y O^4–alquil–pirimidinas; Patente U.S. N.° 5,378,825 y PCT N.° WO 93/13121). Para una discusión general, ver *The Biochemistry of the Nucleic Acids* 5–36, Adams et al., ed., 11th ed., 1992). Los ácidos nucleicos pueden incluir uno o más residuos "abásicos" en los que el esqueleto no incluye una base nitrogenada para la posición del polímero (Patente US N.º 5,585,481). Un ácido nucleico puede comprender solamente azúcares, bases y uniones convencionales de ARN o ADN, o puede incluir tanto componentes convencionales como sustituciones (por ejemplo, bases convencionales con uniones 2 metoxi ' o polímeros que contienen tanto bases convencionales como uno o más análogos de bases). El ácido nucleico incluye "ácido nucleico bloqueado" (LNA), un análogo que contiene uno o más monómeros de nucleótidos LNA con una unidad de furanosa bicíclica bloqueada en una conformación de azúcar que imita al ARN, lo que mejora la afinidad de hibridación hacia secuencias de ARN y ADN complementarias (Vester and Wengel, 2004, *Biochemistry* 43(42):13233–41). El ARN y el ADN tienen diferentes restos de azúcar y pueden diferir por la presencia de uracilo o sus análogos en el ARN y la timina o sus análogos en el ADN.

"Uridina modificada" se usa en la presente para referirse a un nucleósido distinto de timidina con los mismos aceptores de enlaces de hidrógeno que la uridina y una o más diferencias estructurales de la uridina. En algunas formas de realización, una uridina modificada es una uridina sustituida, es decir, una uridina en la que uno o más sustituyentes no protones (por ejemplo, alcoxi, tal como metoxi) toma el lugar de un protón. En algunas formas de realización, una uridina modificada es pseudouridina. En algunas formas de realización, una uridina modificada es una pseudouridina sustituida, es decir, una pseudouridina en la que uno o más sustituyentes no protones (por ejemplo, alquilo, tal como metilo) toma

el lugar de un protón. En algunas formas de realización, una uridina modificada es cualquiera de una uridina sustituida, pseudouridina o pseudouridina sustituida.

"Posición de uridina" como se usa en la presente se refiere a una posición en un polinucleótido ocupado por una uridina o una uridina modificada. En consecuencia, por ejemplo, un polinucleótido en el que "el 100% de las posiciones de uridina son uridinas modificadas" contiene una uridina modificada en cada posición que puede ser una uridina en un ARN convencional (donde todas las bases son bases A, U, C o G estándares), de la misma secuencia. A menos que se indique lo contrario, una U en una secuencia de polinucleótidos de una tabla de secuencias o una lista de secuencias en o que acompañe esta descripción puede ser una uridina o una uridina modificada.

Como se usa en la presente, se considera que una primera secuencia "comprende una secuencia con al menos X% de identidad con" una segunda secuencia si un alineamiento de la primera secuencia con la segunda secuencia muestra que el X% o más de las posiciones de la segunda secuencia en su totalidad están apareadas con la primera secuencia. Por ejemplo, la secuencia AAGA comprende una secuencia con 100% de identidad con la secuencia AAG porque un alineamiento puede dar 100% de identidad en el sentido de que hay coincidencias con las tres posiciones de la segunda secuencia. Las diferencias entre ARN y ADN (generalmente el intercambio de uridina por timidina o viceversa) y la presencia de análogos de nucleósidos tales como las uridinas modificadas no contribuyen a diferencias en la identidad o complementariedad entre los polinucleótidos, siempre que los nucleótidos relevantes (tales como timidina, uridina o uridina modificada) tienen el mismo complemento (por ejemplo, adenosina para la totalidad de timidina, uridina o uridina modificada; otro ejemplo es la citosina y la 5–metilcitosina, las cuales tienen guanosina como complemento). En consecuencia, por ejemplo, la secuencia 5'–AXG donde X es

cualquier uridina modificada, tal como pseudouridina, N1–metil pseudouridina o 5–metoxiuridina, se considera 100% idéntica a AUG en que ambas son perfectamente complementarias con la misma secuencia (5'–CAU). Los ejemplos de algoritmos de alineamiento son los algoritmos Smith–Waterman y Needleman–Wunsch, que son bien conocidos en la técnica. Un experto en la técnica entenderá qué elección de algoritmo y ajustes de parámetros es apropiada para un par dado de secuencias para alinearse; para secuencias de longitud generalmente similar e identidad esperada> 50% para aminoácidos o> 75% para nucleótidos, el algoritmo Needleman–Wunsch con los ajustes predeterminados de la interfaz del algoritmo Needleman–Wunsch proporcionada por el EBI en web server www.ebi.ac.uk son generalmente apropiados.

"ARNm" se usa en la presente para referirse a un polinucleótido que no es ADN y comprende un marco de lectura abierto que se puede traducir en un polipéptido (es decir, puede servir como un sustrato para la traducción por un ribosoma y ARNt aminoacilados). El ARNm puede comprender un esqueleto de fosfato–azúcar que incluye residuos de ribosa o análogos de estos, por ejemplo, residuos de 2'–metoxi–ribosa. En algunas formas de realización, los azúcares de un esqueleto de ARNm fosfato–azúcar consisten esencialmente en residuos de ribosa, residuos de 2'–metoxi–ribosa, o una combinación de estos. En general, los ARNm no contienen una cantidad sustancial de residuos de timidina (por ejemplo, 0 residuos o menos de 30, 20, 10, 5, 4, 3 o 2 residuos de timidina; o menos del 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,2%, o 0,1% de contenido de timidina). Un ARNm puede contener uridinas modificadas en algunas o en todas sus posiciones de uridina.

Como se usa en la presente, un "agente de unión a ADN guiado por ARN" significa un polipéptido o complejo de polipéptidos que tiene actividad de unión a ARN y ADN, o una subunidad de unión a ADN de dicho complejo, en donde la

actividad de unión a ADN es específica de secuencia y depende de la secuencia de ARN. Los ejemplos de agentes de unión a ADN guiados por ARN incluyen cleavasas/nickasas Cas y sus formas inactivadas ("agentes de unión a ADN dCas"). "Cas nucleasa", también llamada "proteína Cas", como se usa en la presente, abarca cleavasas Cas, nickasas Cas y agentes de unión a ADN dCas. La cleavasas/nickasas Cas y agentes de unión al ADN dCas incluyen un complejo Csm o Cmr de un sistema CRISPR tipo III, la subunidad Cas10, Csm1 o Cmr2 del mismo, un complejo Cascade de un sistema CRISPR tipo I, la subunidad Cas3 del mismo y nucleasas Cas Clase 2. Como se usa en la presente, una “nucleasa Cas de Clase 2” es un polipéptido de cadena única con actividad de unión al ADN guiado por ARN, tal como una nucleasa Cas9 o una nucleasa Cpf1. Las nucleasas de Cas de Clase 2 incluyen las cleavasas Cas clase 2 y las nickasas Cas Clase 2 (por ejemplo, las variantes H840A, D10A o N863A), que además tienen actividad de cleavasa o nickasa de ADN guiada por ARN, y agentes de unión de ADN dCas Clase 2, en los que la actividad de la cleavasa/nickasa está inactivada. Las nucleasas Cas Clase 2 incluyen, por ejemplo, Cas9, Cpf1, C2c1, C2c2, C2c3, HF Cas9 (por ejemplo, variantes de N497A, R661A, Q695A, Q926A), HypaCas9 (por ejemplo, variantes de N692A, M694A, Q695A, H698A) 1,0) (por ejemplo, variantes de K810A, K1003A, R1060A) y eSPCas9 (1,1) (por ejemplo, variantes de K848A, K1003A, R1060A) proteínas y modificaciones de estas. La proteína Cpf1, Zetsche et al., Cell, 163:1–13 (2015), es homóloga a Cas9 y contiene un dominio de nucleasa tipo RuvC. Las secuencias Cpf1 de Zetsche se incorporan como referencia en su totalidad. Ver, por ejemplo, Zetsche, Tablas S1 y S3. "Cas9" abarca Spy Cas9, las variantes de Cas9 enumeradas en la presente y sus equivalentes. Ver, por ejemplo, Makarova et al., Nat Rev Microbiol, 13 (11):722–36 (2015); Shmakov et al., *Molecular Cell,* 60:385–397 (2015).

Como se usa en la presente, el "contenido mínimo de uridina" de un marco de lectura abierto (ORF) dado es el contenido de uridina de un ORF que (a) usa un codón de uridina mínimo en cada posición y (b) codifica la misma secuencia de aminoácidos que el ORF dado. El codón de uridina mínimo para un aminoácido dado es el codón con menos uridinas (usualmente 0 ó 1, excepto un codón para fenilalanina, donde el codón de uridina mínima tiene 2 uridinas). Los residuos de uridina modificados se consideran equivalentes a las uridinas con el fin de evaluar el contenido mínimo de uridina.

Como se usa en la presente, el "contenido mínimo de dinucleótido de uridina" de un marco de lectura abierto dado (ORF) es el contenido más bajo posible de dinucleótido de uridina (UU) de un ORF que (a) usa un codón de uridina mínimo (como se describió anteriormente) en cada posición y (b) codifica la misma secuencia de aminoácidos que el ORF dado. El contenido de dinucleótido de uridina (UU) se puede expresar en términos absolutos como la enumeración de dinucleótidos UU en un ORF o en forma de tasa según el porcentaje de posiciones ocupadas por las uridinas de dinucleótidos de uridina (por ejemplo, AUUAU puede tener un contenido de dinucleótido de uridina del 40% porque 2 de 5 posiciones están ocupadas por las uridinas de un dinucleótido de uridina). Los residuos de uridina modificados se consideran equivalentes a las uridinas con el fin de evaluar el contenido mínimo de dinucleótido de uridina.

Como se usa en la presente, el "contenido mínimo de adenina" de un marco de lectura abierto (ORF) dado es el contenido de adenina de un ORF que (a) usa un codón de adenina mínimo en cada posición y (b) codifica la misma secuencia de aminoácidos que el ORF dado. El codón de adenina mínimo para un aminoácido dado es el codón con menos adeninas (usualmente 0 o 1 excepto por un codón para lisina y asparagina, donde el codón de adenina mínimo tiene 2

adeninas). Los residuos de adenina modificados se consideran equivalentes a las adeninas con el fin de evaluar el contenido mínimo de adenina.

Como se usa en la presente, el "contenido mínimo de dinucleótido de adenina" de un marco de lectura abierto dado (ORF) es el contenido más bajo posible de dinucleótido de adenina (AA) de un ORF que (a) utiliza un codón de adenina mínimo (como se describió anteriormente) en cada posición y (b) codifica la misma secuencia de aminoácidos que el ORF dado. El contenido de dinucleótido de adenina (AA) se puede expresar en términos absolutos como la enumeración de dinucleótidos AA en un ORF o en forma de tasa como el porcentaje de posiciones ocupadas por las adeninas de los dinucleótidos de adenina (por ejemplo, HUAHUA puede tener un contenido de dinucleótido de adenina del 40% porque 2 de 5 posiciones están ocupadas por las adeninas de un dinucleótido de adenina). Los residuos de adenina modificados se consideran equivalentes a las adeninas con el fin de evaluar el contenido mínimo de dinucleótido de adenina.

“ARN guía", “ARNg" y "guía" se usan en la presente de manera intercambiable para referirse a un ARNcr (también conocido como ARN CRISPR), o la combinación de un ARNcr y un ARNtr (también conocido como ARNtracr). El ARNcr y el ARNtr se pueden asociar como una molécula de ARN simple (ARN guía {único, ARNsg) o en dos moléculas de ARN separadas (ARN guía doble, ARNdg). " ARN guía” o "ARNg" se refiere a cada tipo. El ARNtr puede ser una secuencia natural o una secuencia de ARNtr con modificaciones o variaciones en comparación con las secuencias naturales.

Como se usa en la presente, una "secuencia guía" se refiere a una secuencia dentro de un ARN guía que es complementaria a una secuencia blanco y funciona para dirigir un ARN guía a una secuencia blanco para la unión o modificación (por ejemplo, escisión) por un agente de unión de ADN guiado de

ARN. Una “secuencia guía” también se puede denominar “secuencia de direccionamiento” o “secuencia espaciadora”. Una secuencia guía puede tener una longitud de 20 pares de bases, por ejemplo, en el caso de Streptococcus pyogenes (es decir, Spy Cas9) y homólogos/ortólogos Cas9 relacionados. También se pueden usar secuencias más cortas o más largas como guías, por ejemplo, 15– 16–, 17–, 19–, 21–, 22–, 23–, 24– o 25–nucleótidos de longitud. En algunas formas de realización, la secuencia blanco está en un gen o en un cromosoma, por ejemplo, y es complementaria a la secuencia guía. En algunas formas de realización, el grado de complementariedad o identidad entre una secuencia guía y su secuencia blanco correspondiente puede ser aproximadamente del 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%. En algunas formas de realización, la secuencia guía y la región blanco pueden ser 100% complementarias o idénticas. En otras formas de realización, la secuencia guía y la región blanco pueden contener al menos un error de apareamiento. Por ejemplo, la secuencia guía y la secuencia blanco pueden contener 1, 2, 3 o 4 errores de apareamiento, donde la longitud total de la secuencia blanco es al menos 17, 18, 19, 20 o más pares de bases. En algunas formas de realización, la secuencia guía y la región blanco pueden contener 1–4 errores de apareamiento en los que la secuencia guía comprende al menos 17, 18, 19, 20 o más nucleótidos. En algunas formas de realización, la secuencia guía y la región blanco pueden contener 1, 2, 3 ó 4 errores de apareamiento en los que la secuencia guía comprende 20 nucleótidos.

Las secuencias blanco para las proteínas Cas incluyen tanto las cadenas positivas como negativas del ADN genómico (es decir, la secuencia dada y el complemento inverso de la secuencia), ya que un sustrato de ácido nucleico para una proteína Cas es un ácido nucleico de doble cadena. Por consiguiente, cuando se dice que una secuencia guía es "complementaria con una secuencia blanco",

se debe entender que la secuencia guía puede dirigir un ARN guía para unirse al complemento inverso de una secuencia blanco. Por lo tanto, en algunas formas de realización, donde la secuencia guía se une al complemento inverso de una secuencia blanco, la secuencia guía es idéntica a ciertos nucleótidos de la secuencia blanco (por ejemplo, la secuencia blanco que no incluye la PAM), excepto por la sustitución de U por T en la secuencia guía.

Como se usa en la presente, “indeles” se refiere a las mutaciones de inserción /supresión que consisten en varios nucleótidos que se insertan o suprimen en el sitio de rupturas de cadena doble (DSB) en el ácido nucleico.

Como se usa en la presente, "inactivación" se refiere a una disminución en la expresión de un producto génico particular (por ejemplo, proteína, ARNm o ambos). La inactivación de una proteína se puede medir ya sea por detección de la proteína secretada por el tejido o la población de células (por ejemplo, en suero o medios celulares) o detección de la cantidad celular total de la proteína de una población de tejidos o células de interés. Los métodos para medir la inactivación de ARNm son conocidos e incluyen la secuenciación de ARNm aislado de una población de tejidos o células de interés. En algunas formas de realización, "inactivación" se puede referir a alguna pérdida de expresión de un producto génico particular, por ejemplo, una disminución en la cantidad de ARNm transcripto o una disminución en la cantidad de proteína expresada o secretada por una población de células (incluso poblaciones in vivo tales como las halladas en los tejidos).

Como se usa en la presente, "inactivación" se refiere a una pérdida de expresión de una proteína particular en una célula. La inactivación se puede medir ya sea por la detección de la cantidad de secreción de proteínas de un tejido o una población de células (por ejemplo, en suero o medio celular) o detección de la cantidad celular total de una proteína, un tejido o una población de células. En

algunas formas de realización, los métodos de la descripción "inactivan" una proteína blanco en una o más células (por ejemplo, en una población de células que incluye poblaciones in vivo tales como las que se encuentran en los tejidos). En algunas formas de realización, una inactivación no es la formación de un mutante de la proteína blanco, por ejemplo, creada por indeles, sino más bien la pérdida completa de expresión de la proteína blanco en una célula.

Como se usa en la presente, “ribonucleoproteína" (RNP) o "complejo RNP" se refiere a un ARN guía junto con un agente de unión a ADN guiado por ARN, tales como una Cas cleavasa, nickasa o agente de unión a ADN dCas (por ejemplo, Cas9). En algunas formas de realización, el ARN guía orienta el agente de unión al ADN guiado por ARN, tal como Cas9, a una secuencia blanco, y el ARN guía se hibrida y el agente se une a la secuencia blanco; en los casos en los que el agente es una cleavasa o níckasa, a la unión le puede seguir escisión o mellas.

Como se usa en la presente, una "secuencia blanco" se refiere a una secuencia de ácido nucleico en un gen blanco que tiene complementariedad con la secuencia guía del ARNg. La interacción de la secuencia blanco y la secuencia guía dirige un agente de unión al ADN guiado por ARN para unir y, potencialmente, cortar o escindir (de acuerdo con la actividad del agente), dentro de la secuencia blanco.

Como se usa en la presente, “tratamiento” se refiere a cualquier administración o aplicación de un agente terapéutico para una enfermedad o trastorno en un sujeto, e incluye inhibir la enfermedad, detener su desarrollo, aliviar uno o más síntomas de la enfermedad, curar la enfermedad o prevenir la reaparición de uno o más síntomas de la enfermedad.

A. Polinucleótidos y composiciones de ejemplo

ARNms y ORFs con bajo contenido de uridina

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina que varía desde su contenido mínimo de uridina hasta aproximadamente el 150% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, el contenido de uridina del ORF es menor o igual a aproximadamente 145%, 140%, 135%, 130%, 125%, 120%, 115%, 110%, 105%, 104%, 103%, 102%, o 101% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina igual a su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 150% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 145% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 140% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 135% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm

que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 130% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 125% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 120% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 115% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 110% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 105% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 104% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 103% de su contenido

mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 102% de su contenido mínimo de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 101% de su contenido mínimo de uridina.

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina que va de su mínimo contenido de uridina a aproximadamente el 150% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, el contenido de uridina del ORF es menor o igual a aproximadamente el 145%, 140%, 135%, 130%, 125%, 120%, 115%, 110%, 105%, 104%, 103%, 102% o 101% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina igual a su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 150% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 145% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco

de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 140% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 135% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 130% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 125% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 120% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 115% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 110% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 105% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm

que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 104% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 103% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 102% de su mínimo contenido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina menor o igual a aproximadamente el 101% de su mínimo contenido de uridina.

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina que va de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina al 200% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, el contenido de dinucleótido de uridina del ORF es menor o igual a aproximadamente el 195%, 190%, 185%, 180%, 175%, 170%, 165%, 160%, 155%, 150%, 145%, 140%, 135%, 130%, 125%, 120%, 115%, 110%, 105%, 104%, 103%, 102% o 101% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina igual a su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente

de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 200% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 195% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 190% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 185% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 180% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 175% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 170% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En

algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 165% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 160% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 155% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina igual a su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 150% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 145% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 140% de su mínimo

contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 135% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 130% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 125% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 120% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 115% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 110% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de

dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 105% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 104% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 103% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 102% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina menor o igual a aproximadamente el 101% de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina.

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de uridina que va de su mínimo contenido de dinucleótido de uridina al el contenido de dinucleótido de uridina que es un 90% o menos del máximo contenido de dinucleótido de uridina de una secuencia de referencia que codifica la misma proteína que el ARNm en cuestión. En algunas formas de realización, el contenido de dinucleótido de uridina del ORF es menor o igual a aproximadamente el 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% o 5% del

máximo contenido de dinucleótido de uridina de una secuencia de referencia que codifica la misma proteína que el ARNm en cuestión.

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de trinucleótido de uridina que varía de 0 trinucleótidos de uridina a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40 ó 50 trinucleótidos de uridina (donde una serie más larga de uridinas cuenta como el número de segmentos únicos de tres uridinas en su interior, por ejemplo, un tetranucleótido de uridina contiene dos trinucleótidos de uridina, un pentanucleótido de uridina contiene tres trinucleótidos de uridina, etc.). En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de trinucleótido de uridina que varía desde 0% de trinucleótidos de uridina hasta 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% de trinucleótidos de uridina del 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,5% o 2%, donde el contenido porcentual de los trinucleótidos de uridina se calcula como el porcentaje de posiciones en una secuencia que están ocupadas por uridinas que forme parte de un trinucleótido de uridina (o una serie más larga de uridinas), de manera que las secuencias UUUAAA y UUUUAAAA tengan un contenido de trinucleótido de uridina del 50%. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual al 2%. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual al 1,5%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual al 1%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual al 0,9%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual al 0,8%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual

al 0,7%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual al 0,6%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual al 0,5%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual al 0,4%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual al 0,3%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual al 0,2%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de uridina menor o igual al 0,1%. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que no contiene trinucleótidos de uridina.

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de trinucleótido de uridina que varía desde su contenido mínimo de trinucleótido de uridina hasta el contenido de trinucleótido de uridina que es del 90% o menor del contenido máximo de trinucleótido de uridina de una secuencia de referencia que codifica la misma proteína que el ARNm en cuestión. En algunas formas de realización, el contenido de urinina trinucleótido del ORF es menor o igual a aproximadamente 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% o 5% del contenido máximo de trinucleótido de uridina de una secuencia de referencia que codifica la misma proteína que el ARNm en cuestión.

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un mínimo de homopolímeros de nucleótidos, por ejemplo, cadenas repetitivas de los mismos nucleótidos. Por ejemplo, en algunas

formas de realización, cuando se selecciona un codón de uridina mínimo de los codones enumerados en la Tabla 1, se construye un ARNm seleccionando los codones de uridina mínimos que reducen el número y la longitud de los homopolímeros de nucleótidos, por ejemplo, seleccionando GCA en lugar de GCC para alanina o seleccionando GGA en lugar de GGG para glicina o seleccionando AAG en lugar de AAA para lisina.

Un ORF dado puede reducirse en contenido de uridina o contenido de dinucleótido de uridina o contenido de trinucleótido de uridina, por ejemplo, usando codones de uridina mínimos en una fracción suficiente del ORF. Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos para un agente de unión a ADN guiado por ARN se puede volver a traducir a una secuencia de ORF convirtiendo los aminoácidos en codones, en donde algunos o todos los ORF utilizan los codones de uridina mínimos de ejemplo que se muestran a continuación. En algunas formas de realización, al menos aproximadamente 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o 100% de los codones en Los ORF son codones listados en la Tabla 1.

Tabla 1. Codones de uridina mínimos de ejemplo

	Aminoácido	Mínimo codón de uridina
A	Alanina	GCA o GCC o GCG
G	Glicina	GGA o GGC o GGG
V	Valina	GUC o GUA o GUG
D	Ácido aspártic	GAC
E	Ácido glutámico	GAA o GAG
I	Isoleucina	AUC o AUA
T	Treonina	ACA o ACC o ACG
N	Asparagina	AAC

K	Lisina	AAG o AAA
S	Serina	AGC
R	Arginina	AGA o AGG
L	Leucina	CUG o CUA o CUC
P	Prolina	CCG o CCA o CCC
H	Histidina	CAC
Q	Glutamina	CAG o CAA
F	Fenilalanina	UUC
Y	Tirosina	UAC
C	Cisteína	UGC
W	Triptófano	UGG
M	Metionina	AUG

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que consiste en un conjunto de codones de los cuales al menos aproximadamente el 75%, 80%, 85%, 90 %, 95%, 98%, 99% o 100% de los codones son codones enumerados en la Tabla 1.

ARNms y ORFs con bajo contenido de adenina

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina que varía desde su contenido mínimo de adenina hasta aproximadamente el 150% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, el contenido de adenina del ORF es menor o igual a aproximadamente 145%, 140%, 135%, 130%, 125%, 120%, 115%, 110%, 105%, 104%, 103%, 102%, o 101% de su contenido mínimo de

adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina igual a su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 150% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 145% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 140% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 135% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 130% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 125% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura

abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 120% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 115% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 110% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 105% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 104% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 103% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 102% de su contenido mínimo de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que

tiene un contenido de adenina menor o igual a aproximadamente el 101% de su contenido mínimo de adenina.

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina que va desde su contenido mínimo de dinucleótido de adenina hasta el 200% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, el contenido de dinucleótido de adenina del ORF es menor o igual a aproximadamente 195%, 190%, 185%, 180%, 175%, 170%, 165%, 160%, 155%, 150%, 145%. 140%, 135%, 130%, 125%, 120%, 115%, 110%, 105%, 104%, 103%, 102% o 101% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina igual a su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 200% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 195% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 190% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización,

se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 185% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 180% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 175% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 170% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 165% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 160% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 155% de su

contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina igual a su contenido mínimo de dinucleótido de adenina.. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 150% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 145% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 140% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 135% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 130% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a

aproximadamente el 125% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 120% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 115% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 110% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 105% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 104% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 103% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura

abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 102% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina menor o igual a aproximadamente el 101% de su contenido mínimo de dinucleótido de adenina.

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de dinucleótido de adenina que varía desde su contenido de dinucleótido de adenina mínimo hasta el contenido de dinucleótido de adenina que es del 90% o menor del contenido máximo de dinucleótido de adenina de una secuencia de referencia que codifica la misma proteína que el ARNm en cuestión. En algunas formas de realización, el contenido de dinucleótido de adenina del ORF es menor o igual a aproximadamente 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% o 5% del contenido máximo de dinucleótido de adenina de una secuencia de referencia que codifica la misma proteína que el ARNm en cuestión.

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de trinucleótido de adenina que varía de 0 trinucleótidos de adenina a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40 ó 50 trinucleótidos de adenina (donde una serie más larga de adeninas cuenta como el número de segmentos únicos de tres adeninas en su interior, por ejemplo, un tetranucleótido de adenina contiene dos trinucleótidos de adenina, un pentanucleótido de adenina contiene tres trinucleótidos de adenina, etc.). En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto

(ORF) que tiene un contenido de trinucleótido de adenina que varía desde 0% de trinucleótidos de adenina hasta 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,5% o 2% de trinucleótidos de adenina, donde el contenido porcentual de los trinucleótidos de adenina se calcula como el porcentaje de posiciones en una secuencia que están ocupadas por adeninas que forma parte de un trinucleótido de adenina (o una serie más larga de adeninas), de modo que las secuencias UUUAAA y UUUUAAAA tengan cada una un contenido de trinucleótido de adenina del 50%. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 2%. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 1,5%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 1%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 0,9%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 0,8%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 0,7%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 0,6%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 0,5%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 0,4%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 0,3%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 0,2%. En algunas formas de realización, el ORF tiene un contenido de trinucleótido de adenina menor o igual al 0,1%. En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN

que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que no contiene trinucleótidos de adenina.

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un mínimo de homopolímeros de nucleótidos, por ejemplo, cadenas repetitivas de los mismos nucleótidos. Por ejemplo, en algunas formas de realización, cuando se selecciona un codón de adenina mínimo de los codones enumerados en la Tabla 1, se construye un ARNm seleccionando los codones de adenina mínimos que reducen el número y la longitud de los homopolímeros de nucleótidos, por ejemplo, seleccionando GCA en lugar de GCC para alanina o seleccionando GGA en lugar de GGG para glicina o seleccionando AAG en lugar de AAA para lisina.

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de trinucleótido de adenina que varía desde su contenido mínimo de trinucleótido de adenina hasta el contenido de trinucleótido de adenina que es del 90% o menor del contenido máximo de trinucleótido de adenina de una secuencia de referencia que codifica la misma proteína que el ARNm en cuestión. En algunas formas de realización, el contenido de trinucleótido de adenina del ORF es menor o igual a aproximadamente 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% o 5% del contenido máximo de trinucleótido de adenina de una secuencia de referencia que codifica la misma proteína que el ARNm en cuestión.

Un ORF dado puede reducirse en contenido de adenina o contenido de dinucleótido de adenina o contenido de trinucleótido de adenina, por ejemplo, utilizando codones de adenina mínimos en una fracción suficiente del ORF. Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos para un agente de unión a ADN guiado

por ARN se puede volver a traducir a una secuencia de ORF convirtiendo los aminoácidos en codones, en donde algunos o todos los ORF utilizan los codones de adenina mínima de ejemplo que se muestran a continuación. En algunas formas de realización, al menos aproximadamente 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o 100% de los codones en Los ORF son codones listados en la Tabla 2.

Tabla 2. Codones de adenina mínimos de ejemplo

	Aminoácido	Mínimo codón de adenina
A	Alanina	GCU o GCC o GCG
G	Glicina	GGU o GGC o GGG
V	Valina	GUC o GUU o GUG
D	Ácido aspártico	GAC o GAU
E	Ácido glutámico	GAG
I	Isoleucina	AUC o AUU
T	Treonina	ACU o ACC o ACG
N	Asparagina	AAC o AAU
K	Lisina	AAG
S	Serina	UCU o UCC o UCG
R	Arginina	CGU o CGC o CGG
L	Leucina	CUG o CUC o CUU
P	Prolina	CCG o CCU o CCC
H	Histidina	CAC o CAU
Q	Glutamina	CAG
F	Fenilalanina	UUC o UUU
Y	Tirosina	UAC o UAU
C	Cisteína	UGC o UGU

W	Triptófano	UGG
M	Metionina	AUG

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que consiste en un conjunto de codones de los cuales al menos aproximadamente el 75%, 80%, 85%, 90 %, 95%, 98%, 99% o 100% de los codones son codones enumerados en la Tabla 2.

ARNms y ORFs con bajo contenido de adenina y bajo contenido de uridina

En la medida de lo posible, cualquiera de las características descritas anteriormente con respecto al bajo contenido de adenina se puede combinar con cualquiera de las características descritas anteriormente con respecto al bajo contenido de uridina. Por ejemplo, se puede proporcionar un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que tiene un contenido de uridina que varía desde su contenido mínimo de uridina hasta aproximadamente el 150% de su contenido mínimo de uridina (por ejemplo, un uridina el contenido del ORF es menor o igual a aproximadamente 145%, 140%, 135%, 130%, 125%, 120%, 115%, 110%, 105%, 104%, 103%, 102% o 101% de su contenido mínimo de uridina) y un contenido de adenina que va desde su contenido mínimo de adenina hasta aproximadamente el 150% de su contenido mínimo de adenina (por ejemplo, menor o igual a aproximadamente el 145%, 140%, 135%, 130%, 125%, 120%, 115%, 110%, 105%, 104%, 103%, 102%, o 101% de su contenido mínimo de adenina). Lo mismo ocurre con los dinucleótidos de uridina y adenina. De manera similar, el contenido de nucleótidos de uridina y dinucleótidos de adenina en el ORF puede ser como se expuso anteriormente. De manera similar, el contenido de

dinucleótidos de uridina y nucleótidos de adenina en el ORF puede ser el establecido anteriormente.

Un ORF dado puede reducirse en contenido de uridina y nucleótido de adenina y/o dinucleótido, por ejemplo, usando un mínimo de codones de uridina y adenina en una fracción suficiente del ORF. Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos para un agente de unión a ADN guiado por ARN se puede volver a traducir a una secuencia de ORF convirtiendo los aminoácidos en codones, en donde algunos o todos los ORF utilizan los codones de uridina y adenina mínimos de ejemplo que se muestran a continuación. En algunas formas de realización, al menos aproximadamente 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o 100% de los codones en Los ORF son codones listados en la Tabla 3.

Tabla 3. Codones de uridina y adenina mínimos de ejemplo

	Aminoácido	Mínimo codón de uridina
A	Alanina	GCC o GCG
G	Glicina	GGC o GGG
V	Valina	GUC o GUG
D	Ácido aspártico	GAC
E	Ácido glutámico	GAG
I	Isoleucina	AUC
T	Treonina	ACC o ACG
N	Asparagina	AAC
K	Lisina	AAG
S	Serina	AGC o UCC o UCG
R	Arginina	CGC o CGG
L	Leucina	CUG o CUC

P	Prolina	CCG o CCC
H	Histidina	CAC
Q	Glutamina	CAG
F	Fenilalanina	UUC
Y	Tirosina	UAC
C	Cisteína	UGC
W	Triptófano	UGG
M	Metionina	AUG

En algunas formas de realización, se proporciona un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que consiste en un conjunto de codones de los cuales al menos aproximadamente el 75%, 80%, 85%, 90 %, 95%, 98%, 99% o 100% de los codones son los codones enumerados en la Tabla 3. Como puede verse en la Tabla 3, cada uno de los tres codones de serina enumerados contiene una A o una U. En algunas formas de realización, la minimización de uridina se prioriza mediante el uso de codones AGC para la serina. En algunas formas de realización, la minimización de adenina se prioriza mediante el uso de codones UCC y/o UCG para la serina.

Codones que incrementan la traducción y/o que corresponden a tARNs de alta expresión; grupos de codones de ejemplo

En algunas formas de realización, el ARNm comprende un ORF que tiene codones que aumentan la traducción en un mamífero, tal como un ser humano. En formas de realización adicionales, el ARNm comprende un ORF que tiene codones que aumentan la traducción en un órgano, tal como el hígado, del mamífero, por ejemplo, un ser humano. En formas de realización adicionales, el

ARNm comprende un ORF que tiene codones que aumentan la traducción en un tipo de célula, tal como un hepatocito, del mamífero, por ejemplo, un ser humano. Un aumento en la traducción en un mamífero, tipo celular, órgano de un mamífero, humano, órgano de un ser humano, etc., se puede determinar en relación con el grado de traducción de la secuencia de tipo salvaje del ORF, o en relación con un ORF que tiene un La distribución de codones coincide con la distribución de codones del organismo del cual se derivó el ORF o el organismo que contiene el ORF más similar a nivel de aminoácidos, como S. pyogenes, S. aureus u otro procariota, según sea el caso, para Cas nucleasas derivadas de procariotas, como las Cas nucleasas de otros procariotas que se describen a continuación. Alternativamente, en algunas formas de realización, un aumento en la traducción de una secuencia de Cas9 en un mamífero, tipo de célula, órgano de un mamífero, humano, órgano de un ser humano, etc., se determina con relación a la traducción de un ORF con la secuencia de SEQ ID NO: 5 con todo lo demás igual, incluidas las mutaciones puntuales aplicables, los dominios heterólogos y similares. Los codones útiles para aumentar la expresión en un humano, incluyendo el hígado humano y los hepatocitos humanos, pueden ser codones correspondientes a los ARNt altamente expresados en el hígado/hepatocitos humanos, que se discuten en Dittmar KA, PLos Genetics 2 (12): e221 (2006). En algunas formas de realización, al menos aproximadamente el 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de los codones en un ORF son codones correspondientes a los ARNt altamente expresados (por ejemplo, el ARNt expresado más alto para cada aminoácido) en un mamífero, como un ser humano. En algunas formas de realización, al menos el 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de los codones en un ORF son codones correspondientes a los ARNt altamente expresados (por ejemplo, el ARNt expresado más alto para cada aminoácido) en un órgano de mamíferos, como un

órgano humano. En algunas formas de realización, al menos el 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de los codones en un ORF son codones correspondientes a los ARNt altamente expresados (por ejemplo, el ARNt expresado más alto para cada aminoácido en un hígado de mamífero, como un hígado humano. En algunas formas de realización, al menos el 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de los codones en un ORF son codones correspondientes a los ARNt altamente expresados (por ejemplo, el ARNt expresado más alto para cada aminoácido) en un hepatocito de mamífero, como un hepatocito humano.

Como alternativa, pueden usarse codones correspondientes a ARNt altamente expresados en un organismo (por ejemplo, humano) en general.

Cualquiera de los enfoques anteriores para la selección de codones puede combinarse con los codones mínimos de uridina y/o adenina mostrados anteriormente, por ejemplo, comenzando con los codones de la Tabla 1, 2 ó 3, y luego donde hay más de una opción disponible, utilizando el codón que corresponde a un ARNt más expresado, ya sea en el organismo (por ejemplo, humano) en general, o en un órgano o tipo de célula de interés, como el hígado o los hepatocitos (por ejemplo, el hígado humano o hepatocitos humanos).

En algunas formas de realización, al menos el 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de los codones en un ORF son codones de un codón el conjunto que se muestra en la Tabla 4 (por ejemplo, el conjunto de codones U 1 bajos, A bajos o A/U bajos). Los codones en los conjuntos de U1 bajo, G bajo, C bajo, A bajo y A/U bajo usan codones que minimizan los nucleótidos indicados mientras que también usan codones correspondientes a los ARNt altamente expresados donde hay más de una opción disponible. En algunas formas de realización, al menos el 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de los codones en un ORF son codones del codón U 1 bajo el

conjunto que se muestra en la Tabla 4. En algunas formas de realización, al menos el 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de los codones en un ORF son codones del conjunto de codones A bajos que se muestra en la Tabla 4. En algunas formas de realización, al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de los codones en un ORF son codones del conjunto de codones de baja A/U que se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Conjuntos de codones de ejemplo

Aminoácido	**Bajo U 1**	**Bajo U 2**	**Alto U**	**Bajo G**	**Bajo C**	**Bajo A**	**Bajo A/U**	**Larga vida media**
Gly	GGC	GGG	GGT	GGC	GGA	GGC	GGC	GGT
Glu	GAG	GAA	GAA	GAA	GAG	GAG	GAG	GAA
Asp	GAC	GAC	GAT	GAC	GAT	GAC	GAC	GAC
Val	GTG	GTA	GTT	GTC	GTG	GTG	GTG	GTC
Ala	GCC	GCG	GCT	GCC	GCT	GCC	GCC	GCC
Arg	AGA	CGA	CGT	AGA	AGA	CGG	CGG	AGA
Ser	AGC	AGC	TCT	TCC	AGT	TCC	AGC	TCT
Lys	AAG	AAA	AAA	AAA	AAG	AAG	AAG	AAG
Asn	AAC	AAC	AAT	AAC	AAT	AAC	AAC	AAC
Met	ATG	ATG	ATG	ATG	AGT	ATG	ATG	ATG
Ile	ATC	ATA	ATT	ATC	ATT	ATC	ATC	ATC
Thr	ACC	ACG	ACT	ACC	ACA	ACC	ACC	ACC
Trp	TGG	TGG	TGG	TGG	TGG	TGG	TGG	TGG
Cys	TGC	TGC	TGT	TGC	TGT	TGC	TGC	TGC

Tyr	TAC	TAC	TAT	TAC	TAT	TAC	TAC	TAC
Leu	CTG	CTA	TTA	CTC	TTG	CTG	CTG	TTG
Phe	TTC	TTC	TTT	TTC	TTT	TTC	TTC	TTC
Gln	CAG	CAA	CAA	CAA	CAG	CAG	CAG	CAA
His	CAC	CAC	CAT	CAC	CAT	CAC	CAC	CAC

Agente de unión a ADN guiado por ARn codificado

En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN es una Cas nucleasa de Clase 2. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN tiene actividad de escisión, que también puede denominarse actividad endonucleasa bicatenaria. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una Cas nucleasa, tal como una Cas nucleasa de Clase 2 (que puede ser, por ejemplo, una Cas nucleasa de Tipo II, V o VI). Las Cas nucleasas de clase 2 incluyen, por ejemplo, proteínas Cas9, Cpf1, C2c1, C2c2 y C2c3 y modificaciones de las mismas. Los ejemplos de nucleasas Cas9 incluyen las de los sistemas CRISPR tipo II de S. pyogenes, S. aureus y otros procariotas (ver, por ejemplo, la lista en el siguiente párrafo), y sus versiones modificadas (por ejemplo, modificadas por ingeniería genética o mutantes). Véase, por ejemplo, US2016/0312198 A1; US 2016/0312199 A1. Otros ejemplos de Cas nucleasas incluyen un complejo Csm o Cmr de un sistema CRISPR de tipo III o la subunidad Cas10, Csm1 o Cmr2 de los mismos; y un complejo en cascada de un sistema CRISPR tipo I, o la subunidad Cas3 del mismo. En algunas formas de realización, la Cas nucleasa puede ser de un sistema Tipo IIA, Tipo IIB o Tipo IIC. Para una discusión de varios sistemas CRISPR y Cas nucleasas, ver, por ejemplo, Makarova et al., NAT. RDO.

MICROBIOL. 9: 467–477 (2011); Makarova y otros, NAT. RDO. MICROBIOL, 13: 722–36 (2015); Shmakov et al., MOLECULAR CELL, 60: 385–397 (2015).

sEntre las especies de ejemplo no limitativas de las que se puede derivar la Cas nucleasa se incluyen Streptococcus pyogenes, Streptococcus sp., Staphylococcus aureus, Listeria. Campylobacter jejuni, Pasteurella multocida, succinogene Fibrobacter, Rhodospirillum rubrum, Nocardiopsis dassonvillei, pristinaespiralis Streptomyces, Streptomyces viridochromogenes, Streptomyces viridochromogenes, Streptosporangium roseum, Streptosporangium roseum, Alicyclobacillus acidocaldarius, Bacillus pseudomycoides, Bacillus selenitireducens, Exiguobacterium sibiricum, Lactobacillus delbrueckii, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus buchneri, Treponema denticola, Microscilla marina, bacteria Burkholderiales, Polaromonas naftalenivoranos, Polaromonas sp., Crocosphaera watsonii, Cyanothece sp., Microcystis aeruginosa, Synechococcus sp., Ac etohalobium arabaticum, degensii Ammonifex, becscii Caldicelulosiruptor, Candidatus Desulforudis, Clostridium botulinum, Clostridium difficile, Finegoldia magna, thermophilus Natranaerobius, thermopropionicum Pelotomaculum, caldus Acidithiobacillus, Acidithiobacillus ferrooxidans, Allochromatium vinosum, Marinobacter sp., Nitrosococcus halophilus, Nitrosococcus watsoni, haloplanktis Pseudoalteromonas, Ktedonobacter racemifer, Methanohalobium evestigatum, Anabaena variabilis, Nostoc sp., Arthrospira platensis, Arthrospira platens., Parvibaculum lavamentivorans, Corynebacterium diphtheria, Acidaminococcus sp., Lachnospiraceae bacteria ND2006 y Acaryochloris marina.

En algunas formas de realización, la Cas nucleasa es la Cas9 nucleasa de Streptococcus pyogenes. En algunas formas de realización, la Cas nucleasa es la Cas9 nucleasa de Streptococcus thermophilus. En algunas formas de realización, la Cas nucleasa es la Cas9 nucleasa de Neisseria meningitidis. En algunas

formas de realización, la Cas nucleasa es la Cas9 nucleasa de Staphylococcus aureus. En algunas formas de realización, la Cas nucleasa es la Cpf1 nucleasa de Francisella novicida. En algunas formas de realización, la Cas nucleasa es la Cpf1 nucleasa de Acidaminococcus sp. En algunas formas de realización, la Cas nucleasa es la Cpf1 nucleasa de la bacteria ND2006 de Lachnospiraceae. En otras formas de realización, la Cas nucleasa es la Cpf1 nucleasa de Francisella tularensis, la bacteria Lachnospiraceae, Butyrivibrio proteoclasticus, *Peregrinibacteria bacterium, Parcubacteria bacterium, Smithella, Acidaminococcus, Candidatus Methanoplasma termitum, Eubacterium eligens, Moraxella bovoculi, Leptospira inadai, Porphyromonas crevioricanis, Prevotella disiens o Porphyromonas macacae*. En otras formas de realización, la Cas nucleasa es una Cpf1 nucleasa de un *Acidaminococcus* o *Lachnospiraceae*.

La Cas9 de tipo salvaje tiene dos dominios de nucleasa: RuvC y HNH. El dominio RuvC divide la cadena de ADN no objetivo, y el dominio HNH divide la cadena objetivo de ADN. En algunas formas de realización, la Cas9 nucleasa comprende más de un dominio RuvC y/o más de un dominio HNH. En algunas formas de realización, la Cas9 nucleasa es una Cas9 de tipo salvaje. En algunas formas de realización, el Cas9 es capaz de inducir una ruptura de doble cadena en el ADN objetivo. En determinadas formas de realización, la Cas nucleasa puede escindir dsADN, puede escindir una cadena de dsADN, o puede no tener actividad de cleavasa o nickasa de ADN. Se proporciona una secuencia de aminoácidos Cas9 de ejemplo como SEQ ID NO: 3. Se proporciona una secuencia ORF de ARNm Cas9 de ejemplo, que incluye los codones de inicio y parada, como SEQ ID NO: 4. Una secuencia codificante ARNm Cas9 de ejemplo, adecuada para su inclusión en un proteína de fusión, se proporciona como SEQ ID NO: 10.

En algunas formas de realización, se usan Cas nucleasas quiméricas, en las que un dominio o región de la proteína se reemplaza por una parte de una proteína diferente. En algunas formas de realización, un dominio de Cas nucleasa puede reemplazarse con un dominio de una nucleasa diferente tal como Fok1. En algunas formas de realización, una Cas nucleasa puede ser una nucleasa modificada.

En otras formas de realización, la Cas nucleasa puede ser de un sistema CRISPR/Cas de Tipo I. En algunas formas de realización, la Cas nucleasa puede ser un componente del complejo de cascada de un sistema CRISPR/Cas de Tipo I. En algunas formas de realización, la Cas nucleasa puede ser una proteína Cas3. En algunas formas de realización, la Cas nucleasa puede ser de un sistema CRISPR/Cas Tipo III. En algunas formas de realización, la Cas nucleasa puede tener una actividad de escisión del ARN.

En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN tiene actividad de la nickasa monocatenaria, es decir, puede cortar una cadena de ADN para producir una ruptura monocatenaria, también conocida como "mella". En algunas formas de realización, el agente de unión al ADN guiado por ARN comprende una Cas nickasa. Una nickasa es una enzima que crea un “Nick” en el dsADN, es decir, corta una cadena pero no la otra de la doble hélice del ADN. En algunas formas de realización, a Cas nickasa es una versión de una Cas nucleasa (por ejemplo, una Cas nucleasa discutida anteriormente) en la que un sitio activo endonucleolítico está inactivado, por ejemplo, por una o más alteraciones (por ejemplo, mutaciones puntuales) en un dominio catalítico. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. N.º 8.889.356 para la discusión de Cas nickasas y alteraciones de dominio catalítico de ejemplo. En algunas formas de realización, a Cas nickasa tal como una Cas9 nickasa tiene un dominio RuvC o HNH inactivado. Se proporciona una secuencia de aminoácidos de nickasa Cas9

de ejemplo como SEQ ID NO: 6. Se proporciona una secuencia ORF de ARNm de Cas9 nickasa de ejemplo, que incluye los codones de inicio y parada, como SEQ ID NO: 7. Una secuencia codificante de ARNm de nickasa Cas9 de ejemplo, adecuada para inclusión en una proteína de fusión, se proporciona como SEQ ID NO: 11.

En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN se modifica para contener solo un dominio de nucleasa funcional. Por ejemplo, la proteína agente puede modificarse de manera tal que uno de los dominios de nucleasa esté mutado o se elimine total o parcialmente para reducir su actividad de escisión del ácido nucleico. En algunas formas de realización, se usa una nickasa que tiene un dominio RuvC con actividad reducida. En algunas formas de realización, se utiliza una nickasa que tiene un dominio RuvC inactivo. En algunas formas de realización, se usa una nickasa que tiene un dominio HNH con actividad reducida. En algunas formas de realización, se usa una nickasa que tiene un dominio HNH inactivo.

En algunas formas de realización, un aminoácido conservado dentro de un dominio de nucleasa de proteína Cas se sustituye para reducir o alterar la actividad de nucleasa. En algunas formas de realización, una Cas nucleasa puede comprender una sustitución de aminoácido en el dominio de nucleasa de tipo RuvC o RuvC. Las sustituciones de aminoácidos de ejemplo en el dominio de nucleasa de tipo RuvC o RuvC incluyen D10A (basada en la proteína Cas9 de S. pyogenes). Véase, por ejemplo, Zetsche et al. (2015) Cell Oct 22: 163 (3): 759–771. En algunas formas de realización, la Cas nucleasa puede comprender una sustitución de aminoácido en el dominio de nucleasa de tipo HNH o HNH. Las sustituciones de aminoácidos de ejemplo en el dominio de nucleasa de tipo HNH o HNH incluyen E762A, H840A, N863A, H983A y D986A (en base a la proteína Cas9 de S. pyogenes). Véase, por ejemplo, Zetsche et al. (2015). Otras

sustituciones de aminoácidos de ejemplo incluyen D917A, E1006A y D1255A (en base a la secuencia de Francisella novicida U112 Cpf1 (FnCpf1) (UniProtKB – A0Q7Q2 (CPF1_FRATN)).

En algunas formas de realización, un ARNm que codifica una nickasa se proporciona en combinación con un par de ARN guía que son complementarios a las cadenas con sentido y antisentido de la secuencia diana, respectivamente. En esta forma de realización, los ARN guía dirigen la nickasa a una secuencia diana e introducen un DSB generando una mella en cadenas opuestas de la secuencia diana (es decir, mella doble). En algunas formas de realización, el uso de doble corte puede mejorar la especificidad y reducir los efectos fuera del objetivo. En algunas formas de realización, se utiliza una nickasa junto con dos ARN guía separados que se dirigen a cadenas opuestas de ADN para producir una muesca doble en el ADN objetivo. En algunas formas de realización, se utiliza una nickasa junto con dos ARN guía separados que se seleccionan para estar muy cerca para producir un doble nick en el ADN objetivo.

En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN carece de actividad de cleavasa y nickasa. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN comprende un polipéptido de unión a ADN dCas. Un polipéptido dCas tiene actividad de unión a ADN, mientras que esencialmente carece de actividad catalítica (cleavasa/nickasa). En algunas formas de realización, el polipéptido dCas es un polipéptido dCas9. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN que carece de actividad de cleavasa y nickasa o el polipéptido de unión a ADN dCas es una versión de una Cas nucleasa (por ejemplo, una Cas nucleasa analizada anteriormente) en la que sus sitios activos endonucleolíticos están inactivados, por ejemplo, por una o más alteraciones (por ejemplo, mutaciones puntuales) en sus dominios catalíticos. Véase, por ejemplo, US 2014/0186958 A1; US

2015/0166980 A1. Se proporciona una secuencia de aminoácidos dCas9 de ejemplo como SEQ ID NO: 8. Se proporciona una secuencia ORF de ARNm dCas9 de ejemplo, que incluye los codones de inicio y parada, como SEQ ID NO: 9. Una secuencia codificante de ARNm dCas9 de ejemplo, adecuada para su inclusión en un proteína de fusión, se proporciona como SEQ ID NO: 12.

Dominios funcionales heterólogos; señales de localización nuclear

En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN comprende uno o más dominios funcionales heterólogos (por ejemplo, es o comprende un polipéptido de fusión).

En algunas formas de realización, el dominio funcional heterólogo puede facilitar el transporte del agente de unión a ADN guiado por ARN en el núcleo de una célula. Por ejemplo, el dominio funcional heterólogo puede ser una señal de localización nuclear (NLS). En algunas formas de realización, el agente de unión al ADN guiado por ARN se puede fusionar con 1–10 NLS. En algunas formas de realización, el agente de unión al ADN guiado por ARN se puede fusionar con 1 – 5 NLS. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN se puede fusionar con una NLS. Cuando se usa una NLS, la NLS puede estar enlazado en el extremo N o en el extremo C de la secuencia del agente de unión al ADN guiado por ARN. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN se puede fusionar en el extremo C a al menos una NLS. También se puede insertar una NLS dentro de la secuencia del agente de unión al ADN guiado por ARN. En otras formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con más de una NLS. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN se puede fusionar con 2, 3, 4 ó 5 NLS. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con dos NLS. En ciertas circunstancias,

los dos NLS pueden ser iguales (por ejemplo, dos NLS SV40) o diferentes. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN se fusiona a dos secuencias NLS de SV40 unidas en el extremo carboxi. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con dos NLS, uno unido en el extremo N y otro en el extremo C. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN se puede fusionar con 3 NLS. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse sin NLS. En algunas formas de realización, la NLS puede ser una secuencia monopartita, tal como, por ejemplo, el SV40 NLS, PKKKRKV (SEQ ID NO: 78) o PKKKRRV (SEQ ID NO: 90). En algunas formas de realización, la NLS puede ser una secuencia bipartita, como la NLS de la nucleoplasmina, KRPAATKKAGQAKKKK (SEQ ID NO: 91). En algunas formas de realización, la secuencia NLS puede comprender LAAKRSRTT (SEQ ID NO: 79), QAAKRSRTT (SEQ ID NO: 80), PAPAKRERTT (SEQ ID NO: 81), QAAKRPRTT (SEQ ID NO: 82), RAQURPRTT (SEQ ID NO: 82). : 83), AAAKRSWSMAA (SEQ ID NO: 84), AAAKRVWSMAF (SEQ ID NO: 85), AAAKRSWSMAF (SEQ ID NO: 86), AAAKRKYFAA (SEQ ID NO: 87), RAAKRKAFAA (SEQ ID NO: 88), o RAAKRKYFAV (SEQ ID NO: 89). En una forma de realización específica, un solo PKKKRKV (SEQ ID NO: 78) NLS puede estar enlazado en el extremo C del agente de unión al ADN guiado por ARN. Uno o más enlazadores están incluidos opcionalmente en el sitio de fusión. En algunas formas de realización, uno o más NLS (s) según cualquiera de las formas de realización anteriores están presentes en el agente de unión a ADN guiado por ARN en combinación con uno o más dominios funcionales heterólogos adicionales, tales como cualquiera de los dominios funcionales heterólogos descritos a continuación.

En algunas formas de realización, el dominio funcional heterólogo puede ser capaz de modificar la vida media intracelular del agente de unión a ADN guiado por ARN. En algunas formas de realización, la vida media del agente de unión a ADN guiado por ARN puede aumentar. En algunas formas de realización, la vida media del agente de unión a ADN guiado por ARN puede reducirse. En algunas formas de realización, el dominio funcional heterólogo puede ser capaz de aumentar la estabilidad del agente de unión a ADN guiado por ARN. En algunas formas de realización, el dominio funcional heterólogo puede ser capaz de reducir la estabilidad del agente de unión a ADN guiado por ARN. En algunas formas de realización, el dominio funcional heterólogo puede actuar como un péptido señal para la degradación de proteínas. En algunas formas de realización, la degradación de la proteína puede estar mediada por enzimas proteolíticas, tales como, por ejemplo, proteasomas, proteasas lisosomales o proteasas de calpaína. En algunas formas de realización, el dominio funcional heterólogo puede comprender una secuencia PEST. En algunas formas de realización, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede modificarse mediante la adición de ubiquitina o una cadena de poliubiquitina. En algunas formas de realización, la ubiquitina puede ser una proteína similar a la ubiquitina (UBL). Los ejemplos no limitantes de proteínas de tipo ubiquitina incluyen el modificador pequeño de tipo ubiquitina (SUMO), la proteína de reacción cruzada de ubiquitina (UCRP, también conocida como gen–15 estimulado por interferón (ISG15)), el modificador–1 relacionado con la ubiquitina (URM1), proteína–8 de desarrollo hacia abajo expresada en células precursoras neuronales (NEDD8, también llamada Rub1 en S. cerevisiae), antígeno de leucocito humano asociado a F (FAT10), autofagia–8 (ATG8) y –12 (ATG12), ubiquitina de Fau –como proteína (FUB1), UBL anclado a membrana (MUB), ubiquitina–pliegue–modificador–1 (UFM1), y proteína–5 similar a la ubiquitina (UBL5).

En algunas formas de realización, el dominio funcional heterólogo puede ser un dominio marcador. Los ejemplos no limitantes de dominios marcadores incluyen proteínas fluorescentes, etiquetas de purificación, etiquetas de epítopo y secuencias de genes informadores. En algunas formas de realización, el dominio marcador puede ser una proteína fluorescente. Los ejemplos no limitantes de proteínas fluorescentes adecuadas incluyen proteínas fluorescentes verdes (por ejemplo, GFP, GFP–2, tagGFP, turboGFP, sfGFP, EGFP, Emerald, Azami Green, Monomeric Azami Green, CopGFP, AceGFP, ZsGreen1), proteínas fluorescentes amarillas (por ejemplo,, YFP, EYFP, Citrine, Venus, YPet, PhiYFP, ZsYellow1), proteínas fluorescentes azules (por ejemplo, EBFP, EBFP2, Azurite, mKalamal, GFPuv, Sapphire, T–zafiro), proteínas fluorescentes cian (por ejemplo, ECFP, Cerulean, CyPet, AmCyan1, Midoriishi–Cyan), proteínas rojas fluorescentes (por ejemplo, MKate, mKate2, mPlum, monómero DsRed, mCherry, mRFP1, DsRed–Express, DsRed–Express, JsRed–Roper) mStrawberry, Jred) y proteínas fluorescentes anaranjadas (mOrange, mKO, Kusabira–Orange, Monomeric Kusabira–Orange, mTangerine, tdTomato) o cualquier otra proteína fluorescente adecuada. En otras formas de realización, el dominio marcador puede ser una etiqueta de purificación y/o una etiqueta de epítopo. Las etiquetas de ejemplo no limitativas incluyen glutatión–S–transferasa (GST), proteína de unión a quitina (CBP), proteína de unión a maltosa (MBP), tiorredoxina (TRX), poli(NANP), etiqueta de purificación por afinidad en tándem (TAP), myc, AcV5, AU1, AU5, E, ECS, E2, BANDERA, HA, nus, Softag 1, Softag 3, Strep, SBP, Glu–Glu, HSV, KT3, S, S1, T7, V5, VSV–G, 6xHis, 8xHis, proteína portadora de biotina carboxilo (BCCP), poli–His y calmodulina. Los genes indicadores de ejemplo no limitativos incluyen glutatión–S–transferasa (GST), peroxidasa de rábano picante (HRP), cloranfenicol acetiltransferasa (CAT), beta–galactosidasa, beta–glucuronidasa, luciferasa o proteínas fluorescentes.

En formas de realización adicionales, el dominio funcional heterólogo puede dirigir el agente de unión a ADN guiado por ARN a un orgánulo específico, tipo de célula, tejido u órgano. En algunas formas de realización, el dominio funcional heterólogo puede dirigir el agente de unión a ADN guiado por ARN a las mitocondrias.

En formas de realización adicionales, el dominio funcional heterólogo puede ser un dominio efector. Cuando el agente de unión al ADN guiado por ARN se dirige a su secuencia diana, por ejemplo, cuando una Cas nucleasa se dirige a una secuencia diana por un ARNg, el dominio efector puede modificar o afectar a la secuencia diana. En algunas formas de realización, el dominio efector puede elegirse entre un dominio de unión a ácido nucleico, un dominio de nucleasa (por ejemplo, un dominio de nucleasa no Cas), un dominio de modificación epigenética, un dominio de activación transcripcional o un dominio represor transcripcional. En algunas formas de realización, el dominio funcional heterólogo es una nucleasa, tal como una nucleasa FokI. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. N.º 9.023.649. En algunas formas de realización, el dominio funcional heterólogo es un activador o represor transcripcional. Véase, por ejemplo, Qi et al., "Reutilización de CRISPR como una plataforma guiada por ARN para el control específico de la secuencia de la expresión génica", Cell 152: 1173–83 (2013); Pérez–Pinera et al., "RNA–guided gene activation by CRISPR–Cas9–based transcription factors," *Nat. Methods* 10:973–6 (2013); Mali et al., "CAS9 transcriptional activators for target specificity screening y paired nickases for cooperative genome engineering," *Nat. Biotechnol*. 31: 833–8 (2013); Gilbert et al., "CRISPR–mediated modular RNA–guided regulation of transcription in eukaryotes", *Cell* 154: 442–51 (2013). Como tal, el agente de unión a ADN guiado por ARN se convierte esencialmente en un factor de transcripción que puede dirigirse para unirse a una secuencia diana deseada utilizando un ARN guía. En

determinadas formas de realización, el dominio de modificación de ADN es un dominio de metilación, tal como un dominio de desmetilación o metiltransferasa. En determinadas formas de realización, el dominio efector es un dominio de modificación de ADN, tal como un dominio de edición de bases. En formas de realización particulares, el dominio de modificación de ADN es un dominio de edición de ácido nucleico que introduce una modificación específica en el ADN, tal como un dominio de desaminasa. Véase, por ejemplo, el documento WO 2015/089406; US 2016/0304846. Los dominios de edición de ácidos nucleicos, los dominios de desaminasa y las variantes de Cas9 descritos en los documentos WO 2015/089406 y US 2016/0304846 se incorporan aquí como referencia.

UTRs; secuencias de Kozak

En algunas formas de realización, el ARNm comprende al menos una UTR de Hidroxiesteroide 17–Beta Deshidrogenasa 4 (HSD17B4 o HSD), por ejemplo, una UTR de 5'de HSD. En algunas formas de realización, el ARNm comprende al menos una UTR de un ARNm de globina, por ejemplo, ARNm de globina alfa humana (HBA), ARNm de globina beta humana (HBB) o ARNm de globina beta de Xenopus laevis (XBG). En algunas formas de realización, el ARNm comprende una UTR 5', 3' UTR o 5' y 3' UTR de un ARNm de globina, tal como HBA, HBB o XBG. En algunas formas de realización, el ARNm comprende una UTR 5'de hormona de crecimiento bovina, citomegalovirus (CMV), Hba–a1 de ratón, HSD, un gen de albúmina, HBA, HBB o XBG. En algunas formas de realización, el ARNm comprende una UTR 3'de hormona de crecimiento bovina, citomegalovirus, ratón Hba–a1, HSD, un gen de albúmina, HBA, HBB o XBG. En algunas formas de realización, el ARNm comprende 5'y 3' UTR de hormona de crecimiento bovina, citomegalovirus, ratón Hba–a1, HSD, un gen de albúmina, HBA, HBB, XBG, proteína de choque térmico 90 (Hsp90), gliceraldehído 3–fosfato

deshidrogenasa (GAPDH), beta–actina, alfa–tubulina, proteína tumoral (p53) o receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)

En algunas formas de realización, el ARNm comprende 5’y 3' UTR que son de la misma fuente, por ejemplo, un ARNm expresado de forma constitutiva tal como actina, albúmina o una globina tal como HBA, HBB o XBG.

En algunas formas de realización, un ARNm divulgado en el presente documento comprende una UTR 5' con al menos un 90% de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 32, 34, 36, 38 ó 41. En algunas formas de realización, un ARNm descrito en el presente documento comprende una UTR 3' con al menos el 90% de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 33, 35, 37, 39 ó 40. En algunas formas de realización, cualquiera de los niveles de identidad anteriores es al menos el 95%, al menos el 98%, al menos 99%, o 100%. En algunas formas de realización, un ARNm divulgado en el presente documento comprende una UTR 5' que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 32, 34, 36, 38 ó 41. En algunas formas de realización, un ARNm descrito en el presente documento comprende una UTR 3' que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 33, 35, 37, 39 ó 40.

En algunas formas de realización, el ARNm no comprende una UTR de 5’, por ejemplo, no hay nucleótidos adicionales entre la tapa de 5’ y el codón de inicio. En algunas formas de realización, el ARNm comprende una secuencia Kozak (descrita a continuación) entre la tapa 5' y el codón de inicio, pero no tiene ninguna UTR 5' adicional. En algunas formas de realización, el ARNm no comprende una UTR 3', por ejemplo, no hay nucleótidos adicionales entre el codón de parada y la cola poli–A.

En algunas formas de realización, el ARNm comprende una secuencia Kozak. La secuencia de Kozak puede afectar el inicio de la traducción y el rendimiento global de un polipéptido traducido de un ARNm. Una secuencia de

Kozak incluye un codón de metionina que puede funcionar como el codón de inicio. Una secuencia de Kozak mínima es NNNRUGN, en la que al menos una de las siguientes afirmaciones es cierta: la primera N es A o G y la segunda N es G. En el contexto de una secuencia de nucleótidos, R significa una purina (A o G). En algunas formas de realización, la secuencia de Kozak es RNNRUGN, NNNRUGG, RNNRUGG, RNNAUGN, NNNAUGG o RNNAUGG. En algunas formas de realización, la secuencia de Kozak es rccRUGg con cero desajustes o con hasta uno o dos desajustes con las posiciones en minúsculas. En algunas formas de realización, la secuencia de Kozak es rccAUGg con cero desajustes o con hasta uno o dos desajustes con las posiciones en minúsculas. En algunas formas de realización, la secuencia de Kozak es gccRccAUGG (nucleótidos 4–13 de la SEQ ID NO: 105) con desajustes cero o con hasta uno, dos o tres desajustes en las posiciones en minúsculas. En algunas formas de realización, la secuencia de Kozak es gccAccAUG con cero desajustes o con hasta uno, dos, tres o cuatro desajustes en las posiciones en minúsculas. En algunas formas de realización, la secuencia de Kozak es GCCACCAUG. En algunas formas de realización, la secuencia de Kozak es gccgccRccAUGG (SEQ ID NO: 105) con cero desajustes o con hasta uno, dos, tres o cuatro desajustes con las posiciones en minúsculas.

Secuencias de ejemplo

En algunas formas de realización, el ARNm comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, en el que el ORF comprende una secuencia con al menos el 90% de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175. En algunas formas de realización, el ARNm comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, en donde el agente

de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 90% de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 3, 6, 8, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 68 ó 186–196, en donde el ORF tiene un contenido de uridina que va desde su contenido mínimo de uridina hasta el 150% del contenido mínimo de uridina, y/o tiene un contenido de dinucleótido de uridina que van desde su contenido mínimo de dinucleótido de uridina hasta el 150% del contenido mínimo de dinucleótido de uridina. En algunas formas de realización, el ARNm comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, en donde el agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 90% de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 3, 6, 8, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 68 ó 186–196, en donde el ORF tiene un contenido de adenina que va desde su contenido mínimo de adenina hasta el 150% del contenido mínimo de adenina, y/o tiene un contenido de dinucleótido de adenina que va desde su contenido mínimo de dinucleótido de adenina hasta el 150% del contenido mínimo de dinucleótido de adenina. En algunas de tales formas de realización, tanto el contenido de nucleótidos de adenina como de uridina son menores o iguales al 150% de sus mínimos respectivos. En algunas formas de realización, tanto el contenido de dinucleótido de adenina como de uridina son menores o iguales al 150% de sus mínimos respectivos. En algunas formas de realización, el ARNm comprende una secuencia con al menos el 90% de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 43, 44, 51, 53, 55–61 ó 67, en la que la secuencia comprende un ORF que codifica un ADN guiado por ARN agente de unión. En algunas formas de realización, el ARNm comprende una secuencia con al menos el 90% de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 43, 44, 51, 53, 55–61 ó 67, en la que la secuencia comprende un ORF que codifica un ADN guiado por ARN agente de unión, en el que se omiten los primeros tres nucleótidos de las SEQ ID NO: 43, 44, 51, 53, 55–61 ó 67. En

algunas formas de realización, cualquiera de los niveles de identidad anteriores es al menos el 95%, al menos el 98%, al menos el 99%, o el 100%.

En algunas formas de realización, el ARNm comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, en el que el ORF tiene al menos un 90% de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175 en al menos sus primeros 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 ó 300 nucleótidos. Los primeros 30, 50, 70, 100, 150, 200, 250 ó 300 nucleótidos se miden a partir del primer nucleótido del codón de inicio (típicamente ATG), de modo que A es el nucleótido 1, la T es el nucleótido 2, etc. En algunas formas de realización, el marco de lectura abierto tiene al menos un 90% de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175 en al menos su primer 10%, 12%, 15%, 20%, 25%, 30% o 35% de su secuencia. La longitud de la secuencia del ORF es el número de nucleótidos desde el comienzo del codón de inicio hasta el final del codón de parada, y el primer 10%, 12%, 15%, 20%, 25%, 30%, o El 35% de su secuencia corresponde al número de nucleótidos a partir del primer nucleótido del codón de inicio que constituyen el porcentaje indicado de la longitud de la secuencia total.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 43, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 43 (es decir, la SEQ ID NO: 4) está sustituido con un ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 44, opcionalmente en

la que la ORF de la SEQ ID NO: 44 (es decir, la SEQ ID NO: 4) está sustituido con un ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 56, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 56 (es decir, la SEQ ID NO: 4) está sustituido con un ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 57, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 57 (es decir, la SEQ ID NO: 4) está sustituido con un ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 58, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 58 (es decir, la SEQ ID NO: 4) está sustituido con un ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 59, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 59 (es decir, la SEQ ID NO: 4) está sustituido con un ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 60, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 60 (es decir, la SEQ ID NO: 4) está sustituido con un ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 61, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 61 (es decir, la SEQ ID NO: 4) está sustituido con un ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 176, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 176 está sustituida con una ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 177, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 177 está sustituida con una ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 178, opcionalmente

en la que la ORF de la SEQ ID NO: 178 está sustituida con una ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 179, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 179 está sustituida con una ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 180, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 180 está sustituida con una ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 181, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 181 está sustituida con una ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 182, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 182 está sustituida con una ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 183, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 183 está sustituida con una ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 184, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 184 está sustituida con una ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 185, opcionalmente en la que la ORF de la SEQ ID NO: 185 está sustituida con una ORF alternativo de cualquiera de las SEQ ID NO: 4, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 50, 52, 54, 65, 66 ó 107–175.

En algunas formas de realización, el grado de identidad con las secuencias opcionalmente sustituidas de las SEQ ID NO 43, 44, 56–61 ó 176–185 es al menos el 95%. En algunas formas de realización, el grado de identidad con las secuencias opcionalmente sustituidas de las SEQ ID NO 43, 44, 56–61 ó 176–185 es al menos el 98%. En algunas formas de realización, el grado de identidad con las secuencias opcionalmente sustituidas de las SEQ ID NO 43, 44, 56–61 ó 176–185 es al menos el 99%. En algunas formas de realización, el grado de identidad con las secuencias opcionalmente sustituidas de las SEQ ID NO 43, 44, 56–61 ó 176–185 es del 100%.

Cola poli–A

En algunas formas de realización, el ARNm comprende además una cola poli–adenilada (poli–A). En algunos casos, la cola de poli–A se "interrumpe" con uno o más "anclajes" de nucleótidos no adenina en una o más ubicaciones dentro de la cola de poli–A. Las colas de poli–A pueden comprender al menos 8 nucleótidos de adenina consecutivos, pero también comprenden uno o más nucleótidos no adenina. Como se usa en el presente documento, "nucleótidos no adenina" se refiere a cualquier nucleótido natural o no natural que no comprende adenina. Guanina, timina y citosina nucleótidos son ejemplos de nucleótidos no adenina. Por lo tanto, las colas de poli–A en el ARNm descrito en el presente documento pueden comprender nucleótidos de adenina consecutivos ubicados 3'a nucleótidos que codifican un agente de unión a ADN guiado por ARN o una secuencia de interés. En algunos casos, las colas de poli–A en el ARNm comprenden nucleótidos de adenina no consecutivos localizados 3'a nucleótidos que codifican un agente de unión a ADN guiado por ARN o una secuencia de interés, en donde los nucleótidos de no adenina interrumpen los nucleótidos de adenina en forma regular o irregular intervalos espaciados.

En algunas formas de realización, la cola poli–A se codifica en el plásmido utilizado para la transcripción in vitro de ARNm y se convierte en parte de la transcripción. La secuencia de poli–A codificada en el plásmido, es decir, el número de nucleótidos de adenina consecutivos en la secuencia de poli–A, puede no ser exacta, por ejemplo, una secuencia de 100 poli–A en el plásmido puede no dar como resultado exactamente 100 poli–A Una secuencia en el ARNm transcrito. En algunas formas de realización, la cola de poli–A no está codificada en el plásmido, y se añade por colas de PCR o por colas enzimáticas, por ejemplo, utilizando poli(A) polimerasa de E. coli.

En algunas formas de realización, el uno o más nucleótidos no adenina se colocan para interrumpir los nucleótidos de adenina consecutivos de modo que una proteína de unión a poli(A) pueda unirse a un tramo de nucleótidos de adenina consecutivos. En algunas formas de realización, uno o más nucleótidos sin adenina se localizan después de al menos 8, 9, 10, 11 ó 12 nucleótidos de adenina consecutivos. En algunas formas de realización, el uno o más nucleótidos no adenina se localiza después de al menos 8–50 nucleótidos de adenina consecutivos. En algunas formas de realización, el uno o más nucleótidos no adenina se localiza después de al menos 8–100 nucleótidos de adenina consecutivos. En algunas formas de realización, el nucleótido no adenina está después de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete nucleótidos de adenina y es seguido por al menos 8 nucleótidos de adenina consecutivos.

La cola poli–A de la presente divulgación puede comprender una secuencia de nucleótidos de adenina consecutivos seguidos de uno o más nucleótidos no adenina, opcionalmente seguidos de nucleótidos de adenina adicionales.

En algunas formas de realización, la cola poli–A comprende o contiene un nucleótido no adenina o un tramo consecutivo de 2–10 nucleótidos no adenina. En algunas formas de realización, el (los) nucleótido (s) de no adenina se localiza después de al menos 8, 9, 10, 11 ó 12 nucleótidos de adenina consecutivos. En algunos casos, el uno o más nucleótidos no adenina se localizan después de al menos 8–50 nucleótidos de adenina consecutivos. En algunas formas de realización, el uno o más nucleótidos no adenina se localizan después de al menos 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24., 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, o 50 nucleótidos de adenina consecutivos.

En algunas formas de realización, el nucleótido no adenina es guanina, citosina o timina. En algunos casos, el nucleótido no adenina es un nucleótido

guanina. En algunas formas de realización, el nucleótido no adenina es un nucleótido citosina. En algunas formas de realización, el nucleótido no adenina es un nucleótido de timina. En algunos casos, cuando está presente más de un nucleótido no adenina, el nucleótido no adenina puede seleccionarse de: a) nucleótidos de guanina y timina; b) guanina y citosina nucleótidos; c) nucleótidos de timina y citosina; od) guanina, timina y citosina nucleótidos. Una cola poli–A de ejemplo que comprende nucleótidos no adenina se proporciona como SEQ ID NO: 62.

Nucleótidos modificados

En algunas formas de realización, un ARNm comprende una uridina modificada en algunas o todas las posiciones de uridina. En algunas formas de realización, la uridina modificada es una uridina modificada en la posición 5, por ejemplo, con un halógeno o alcoxi C1–C3. En algunas formas de realización, la uridina modificada es una pseudouridina modificada en la posición 1, por ejemplo, con un alquilo C1–C3. La uridina modificada puede ser, por ejemplo, pseudouridina, N1–metil–pseudouridina, 5–metoxiuridina, 5–yodouridina o una combinación de las mismas. En algunas formas de realización, la uridina modificada es 5–metoxiuridina. En algunas formas de realización, la uridina modificada es 5–yodouridina. En algunas formas de realización, la uridina modificada es pseudouridina. En algunas formas de realización, la uridina modificada es N1–metil–pseudouridina. En algunas formas de realización, la uridina modificada es una combinación de pseudouridina y N1–metil–pseudouridina. En algunas formas de realización, la uridina modificada es una combinación de pseudouridina y 5–metoxiuridina. En algunas formas de realización, la uridina modificada es una combinación de N1–metil pseudouridina y 5–metoxiuridina. En algunas formas de realización, la uridina modificada es una

combinación de 5–yodouridina y N1–metil–pseudouridina. En algunas formas de realización, la uridina modificada es una combinación de pseudouridina y 5–yodouridina. En algunas formas de realización, la uridina modificada es una combinación de 5–yodouridina y 5–metoxiuridina.

En algunas formas de realización, al menos 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80% El 85%, el 90%, el 95%, el 98%, el 99% o el 100% de las posiciones de uridina en un ARNm de acuerdo con la descripción son uridinas modificadas. En algunas formas de realización, 10% –25%, 15–25%, 25–35%, 35–45%, 45–55%, 55–65%, 65–75%, 75–85%, 85–95%, o 90–100% de las posiciones de uridina en un ARNm de acuerdo con la divulgación son uridinas modificadas, por ejemplo, 5–metoxiuridina, 5–yodouridina, N1–metil pseudouridina, pseudouridina o una combinación de las mismas. En algunas formas de realización, 10% –25%, 15–25%, 25–35%, 35–45%, 45–55%, 55–65%, 65–75%, 75–85%, 85–95%, o 90–100% de las posiciones de uridina en un ARNm de acuerdo con la descripción son 5–metoxiuridina. En algunas formas de realización, 10% –25%, 15–25%, 25–35%, 35–45%, 45–55%, 55–65%, 65–75%, 75–85%, 85–95%, o 90–100% de las posiciones de uridina en un ARNm de acuerdo con la divulgación son pseudouridina. En algunas formas de realización, 10% –25%, 15–25%, 25–35%, 35–45%, 45–55%, 55–65%, 65–75%, 75–85%, 85–95%, o 90–100% de las posiciones de uridina en un ARNm de acuerdo con la descripción son N1–metil pseudouridina. En algunas formas de realización, 10% –25%, 15–25%, 25–35%, 35–45%, 45–55%, 55–65%, 65–75%, 75–85%, 85–95%, o 90–100% de las posiciones de uridina en un ARNm de acuerdo con la descripción son 5–yodouridina. En algunas formas de realización, 10% –25%, 15–25%, 25–35%, 35–45%, 45–55%, 55–65%, 65–75%, 75–85%, 85–95%, o 90–100% de las posiciones de uridina en un ARNm de acuerdo con la divulgación son 5–

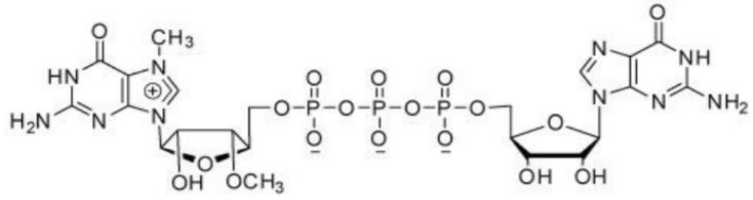
metoxiuridina, y el resto es N1–metil pseudouridina. En algunas formas de realización, 10% –25%, 15–25%, 25–35%, 35–45%, 45–55%, 55–65%, 65–75%, 75–85%, 85–95%, o 90–100% de las posiciones de uridina en un ARNm de acuerdo con la divulgación son 5–yodouridina, y el resto es N1–metil pseudouridina.

5’ Cap

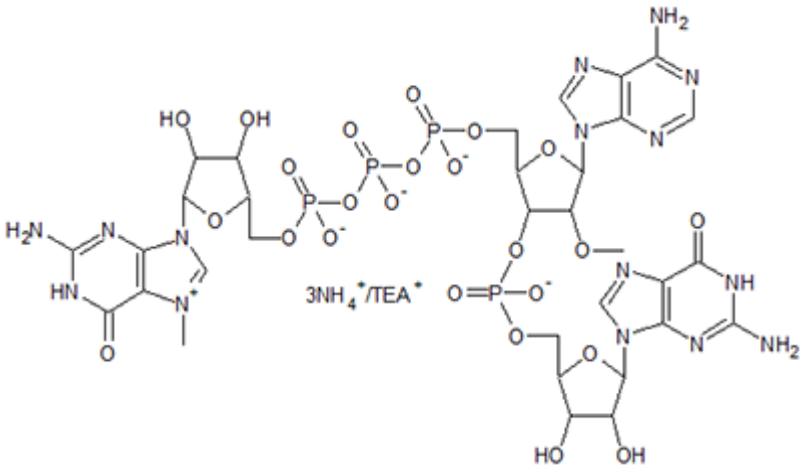
En algunas formas de realización, un ARNm descrito en el presente documento comprende un cap 5', tal como un Cap0, Cap1 o Cap2. Un cap 5' es generalmente un ribonucleótido de 7–metilguanina (que puede modificarse aún más, como se explica más adelante, por ejemplo, con respecto a ARCA) unido a través de un 5'–trifosfato a la posición 5' del primer nucleótido de los 5' a cadena 3' del ARNm, es decir, el primer nucleótido proximal a cap. En Cap0, las ribosas del primer y segundo nucleótidos proximales al capuchón del ARNm ambos comprenden un 2'–hidroxilo. En Cap1, las ribosas del primer y segundo nucleótidos transcritos del ARNm comprenden un 2'–metoxi y un 2'–hidroxilo, respectivamente. En Cap2, las ribosas del primer y segundo nucleótidos proximales al capuchón del ARNm comprenden ambos un metoxi 2'. Véase, por ejemplo, Katibah et al. (2014) Proc Natl Acad Sci USA 111 (33): 12025–30; Abbas et al. (2017) Proc Natl Acad Sci USA 114 (11): E2106–E2115. La mayoría de los ARNm eucariotas superiores endógenos, incluidos los ARNm de mamíferos como los ARNm humanos, comprenden Cap1 o Cap2. Cap0 y otras estructuras de capuchones que difieren de Cap1 y Cap2 pueden ser inmunogénicas en mamíferos, como los humanos, debido al reconocimiento como "no propio" por componentes del sistema inmunitario innato como el IFIT–1 y el IFIT–5, que pueden dar como resultado Niveles elevados de citoquinas incluyendo interferón tipo I. Los componentes del sistema inmunitario innato como el IFIT–1 y el IFIT–5

también pueden competir con el eIF4E por la unión de un ARNm con un capuchón distinto de Cap1 o Cap2, lo que inhibe potencialmente la traducción del ARNm.

Se puede incluir un capuchón cotranscripcionalmente. Por ejemplo, ARCA (análogo de capuchón anti–inverso; Thermo Fisher Scientific Cat. No. AM8045) es un análogo de capuchón que comprende un 3'–metoxi–5'–trifosfato de 7–metilguanina unido a la posición 5' de un ribonucleótido de guanina que puede ser incorporado in vitro en una transcripción al inicio. ARCA da como resultado un límite Cap0 en el que la posición 2' del primer nucleótido proximal al límite es el hidroxilo. Ver, por ejemplo, Stepinski et al., (2001) “Synthesis and properties of ARNms containing the novel ‘anti–reverse’ cap analogs 7–metil(3'–O–metil)GpppG and 7–metil(3'deoxy)GpppG,” *RNA* 7: 1486–1495. La estructura ARCA se muestra a continuación.



CleanCap™ AG (m7G (5’) ppp (5') (2'OMeA) pG; TriLink Biotechnologies Cat. No. N–7113) o CleanCap™ GG (m7G (5’) ppp (5') (2'OMeG) pG; TriLink Biotechnologies Cat. No. N–7133) se puede utilizar para proporcionar una estructura Cap1 cotranscripcional. Las versiones 3'–O–metiladas de CleanCap™ AG y CleanCap™ GG también están disponibles en TriLink Biotechnologies como Cat. Nos. N–7413 y N–7433, respectivamente. La estructura de CleanCap™ AG se muestra a continuación. Algunas veces se hace referencia a las estructuras de CleanCap™ en el presente documento utilizando los últimos tres dígitos de los números de catálogo enumerados anteriormente (por ejemplo, "CleanCap™ 113" para TriLink Biotechnologies Cat. No. N–7113).



Alternativamente, se puede agregar un límite a un ARN después de la transcripción. Por ejemplo, la enzima de cobertura Vaccinia está disponible comercialmente (New England Biolabs Cat. No. M2080S) y tiene actividades de ARN trifosfatasa y guanililtransferasa, proporcionadas por su subunidad D1, y guanina metiltransferasa, proporcionada por su subunidad D12. Como tal, puede agregar una 7–metilguanina a un ARN, para dar Cap0, en presencia de S–adenosil metionina y GTP. Véase, por ejemplo, Guo, P. y Moss, B. (1990) Proc. Natl Acad Sci. USA 87, 4023–4027; Mao, X. y Shuman, S. (1994) J. Biol. Chem. 269, 24472–24479. Para una discusión adicional sobre los límites y los enfoques de limitación, vea, por ejemplo, WO2017/053297 e Ishikawa et al., Nucl. Acids Symp. Ser (2009) No. 53, 129–130.

ARN guía

En algunas formas de realización, al menos un ARN guía se proporciona en combinación con un ARNm descrito en el presente documento. En algunas formas de realización, se proporciona una guía de ARN como una molécula separada del ARNm. En algunas formas de realización, se proporciona una guía de ARN como parte, tal como una parte de una UTR, de un ARNm descrito en el presente documento. En algunas formas de realización, al menos una guía de ARN se dirige a TTR.

En algunas formas de realización, un RNA guía comprende un sgARN modificado. En algunas formas de realización, el sgARN comprende el patrón de modificación mostrado en la SEQ ID NO: 74, donde N es cualquier nucleótido natural o no natural, y donde la totalidad de los N comprende una secuencia guía. Por ejemplo, aquí se incluye la SEQ ID NO: 74, donde las N se reemplazan con cualquiera de las secuencias guía descritas en este documento. Las modificaciones son las que se muestran en la SEQ ID NO: 74 a pesar de la sustitución de N por los nucleótidos de una guía. Es decir, aunque los nucleótidos de la guía reemplazan a las "N", los tres primeros nucleótidos están modificados en 2'OMe y existen enlaces fosforotioato entre el primer y segundo nucleótidos, el segundo y tercer nucleótidos y el tercer y cuarto nucleótidos.

Lípidos; formulación; suministro

En algunas formas de realización, un ARNm descrito en el presente documento, solo o acompañado por uno o más ARN guía, se formula o se administra a través de una nanopartícula lipídica; véase, por ejemplo, PCT/US2017/024973, presentado el 30 de marzo de 2017, que reivindica la prioridad de los EE. UU. 62/315,602, presentada el 30 de marzo de 2016 y titulada "LIPID NANOPARTICLE FORMULATIONS FOR CRISPR/CAS COMPONENTS", cuyos contenidos se incorporan aquí como referencia en su totalidad. Cualquier nanopartícula lipídica (LNP) conocida por los expertos en la técnica como capaces de suministrar nucleótidos a sujetos puede utilizarse para administrar los ARN descritos en el presente documento, que en algunas formas de realización están acompañados por uno o más ARN guía. En algunas formas de realización, un ARNm descrito en el presente documento, solo o acompañado por uno o más ARN guía, se formula o se administra a través de un liposoma, una nanopartícula, un exosoma o una microvesícula. Las emulsiones, micelas y

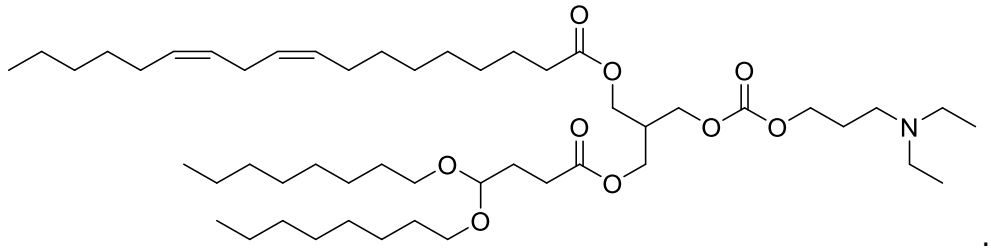
suspensiones pueden ser composiciones adecuadas para la administración local y/o tópica.

En el presente documento se describen varias formas de realización de formulaciones de LNP para ARN, incluidas las cargas CRISPR/Cas. Dichas formulaciones de LNP pueden incluir (i) un lípido CCD, tal como un lípido de amina, (ii) un lípido neutro, (iii) un lípido auxiliar, y (iv) un lípido sigiloso, tal como un lípido PEG. Algunas formas de realización de las formulaciones de LNP incluyen un "lípido de amina", junto con un lípido auxiliar, un lípido neutro y un lípido invisible como un lípido PEG. Por "nanopartícula lipídica" se entiende una partícula que comprende una pluralidad de (es decir, más de una) moléculas lipídicas físicamente asociadas entre sí por fuerzas intermoleculares.

Lípidos CCD

Las composiciones lipídicas para el suministro de ARNm de CRISPR/Cas y componentes de ARN guía a una célula hepática comprenden un lípido CCD.

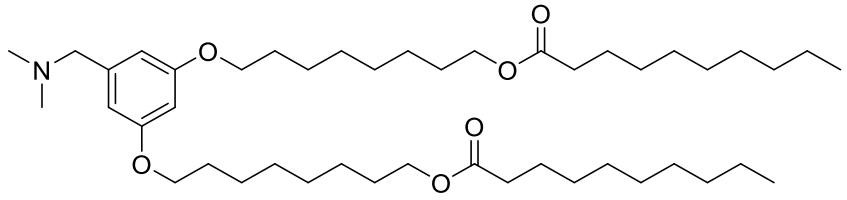
En algunas formas de realización, el lípido CCD es el lípido A, que es (9Z, 12Z)–3–((4,4–bis(octiloxi)butanoil)oxi)–2–(((((3–(dietilamino)propoxi)carbonilo)oxi) metil)propiloctadeca–9,12–dienoato, también llamado 3–((4,4–bis(octiloxi)butanoil) oxi)–2–((((((3–(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propil(9Z,12Z)–octadeca–9,12–dienoato. El lípido A se puede representar como:



.

El lípido A se puede sintetizar de acuerdo con el documento WO2015/095340 (por ejemplo, pp. 84–86).

En algunas formas de realización, el lípido CCD es el lípido B, que es ((5 –((dimetilamino)metil)–1,3–fenilen)bis(oxi))bis(octan–8,1–diil)bis(decanoato), también llamado ((5–((dimetilamino)metil)–1,3–fenilen)bis(oxi))bis(octan–8,1–diil)bis (decanoato). El lípido B se puede representar como:

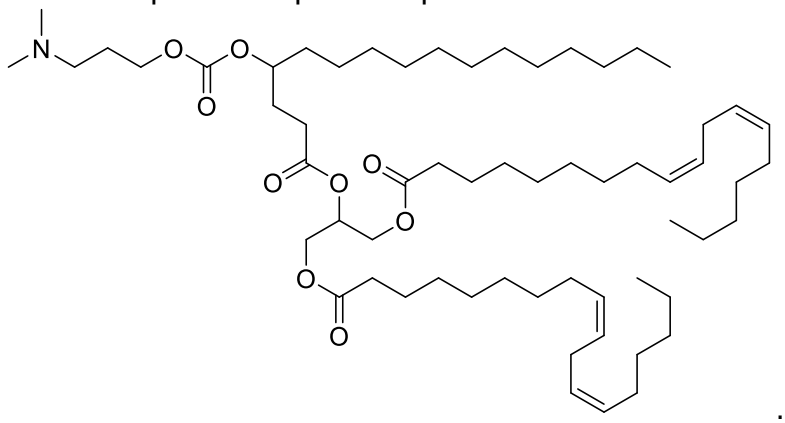


.

El lípido B puede sintetizarse de acuerdo con el documento WO 2014/136086 (por ejemplo, pp. 107–09).

En algunas formas de realización, el lípido CCD es el lípido C, que es 2–((4 –(((3–(dimetilamino)propoxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propan–1,3–diil(9Z,9'Z,12Z,12'Z)–bis (octadeca–9,12–dienoato).

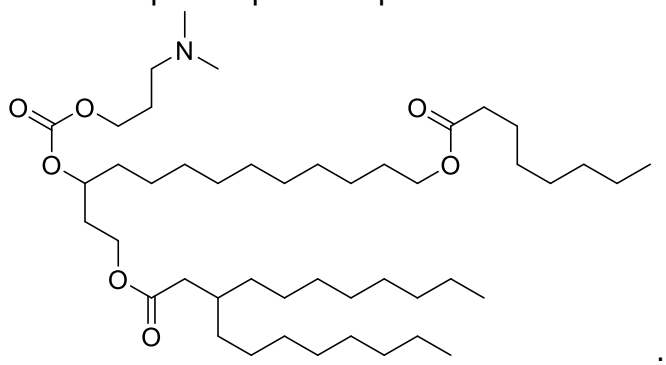
El lípido C se puede representar como:



.

En algunas formas de realización, el lípido CCD es el lípido D, que es 3–octilundecanoato de 3–(((3–(dimetilamino)propoxi)carbonil)oxi)–13–(octanoiloxi) tridecilo.

El lípido D puede representarse como:



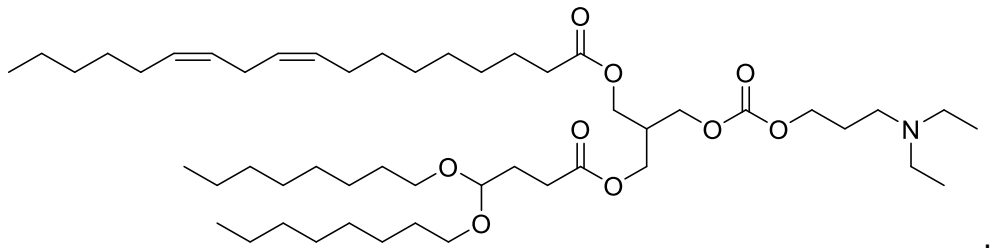
El lípido C y el lípido D se pueden sintetizar de acuerdo con el documento WO2015/095340.

El lípido CCD también puede ser un equivalente a lípido A, lípido B, lípido C o lípido D. En determinadas formas de realización, el lípido CCD es un equivalente a lípido A, un equivalente a lípido B, un equivalente a lípido C, o equivalente a Lípido D.

Lípidos de amina

En algunas formas de realización, las composiciones de LNP para el suministro de agentes biológicamente activos comprenden un "lípido de amina", que se define como el lípido A o sus equivalentes, incluidos los análogos de acetal del lípido A.

En algunas formas de realización, el lípido amina es el lípido A, que es (9Z, 12Z)–3–((4,4–bis(octiloxi)butanoil)oxi)–2–(((((3–(dietilamino)propoxi)carbonilo)oxi) metil)propiloctadeca–9,12–dienoato, también llamado 3–((4,4–bis(octiloxi)butanoil) oxi)–2–((((((3–(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propil(9Z,12Z)–octadeca–9,12–dienoato. El lípido A se puede representar como:



El lípido A se puede sintetizar de acuerdo con el documento WO2015/095340 (por ejemplo, pp. 84–86). En determinadas formas de realización, el lípido amina es un equivalente a lípido A.

En determinadas formas de realización, un lípido de amina es un análogo de lípido A. En determinadas formas de realización, un análogo de lípido A es un análogo de acetal de lípido A. En particular composiciones de LNP, el análogo de acetal es un análogo de acetal C4–C12. En algunas formas de realización, el análogo de acetal es un análogo de acetal C5–C12. En formas de realización adicionales, el análogo de acetal es un análogo de acetal C5–C10. En otras formas de realización, el análogo de acetal se elige entre un análogo de acetal C4, C5, C6, C7, C9, C10, C11 y C12.

Los lípidos de amina adecuados para uso en los LNP descritos en el presente documento son biodegradables in vivo. Los lípidos de amina tienen baja toxicidad (por ejemplo, se toleran en modelos animales sin efecto adverso en cantidades mayores o iguales a 10 mg/kg). En determinadas formas de realización, los LNP que comprenden un lípido de amina incluyen aquellos en los que al menos el 75% del lípido de amina se elimina del plasma dentro de 8, 10, 12, 24 ó 48 horas, o 3, 4, 5, 6, 7, o 10 días. En determinadas formas de realización, los LNP que comprenden un lípido de amina incluyen aquellos en los que al menos el 50% del ARNm o gARN se elimina del plasma dentro de 8, 10, 12, 24 o 48 horas, o 3, 4, 5, 6, 7 ó 10 días. En determinadas formas de

realización, los LNP que comprenden un lípido de amina incluyen aquellos en los que al menos el 50% del LNP se elimina del plasma dentro de 8, 10, 12, 24 ó 48 horas, o 3, 4, 5, 6, 7 ó 10 días, por ejemplo, midiendo un lípido (por ejemplo, un lípido de amina), ARN (por ejemplo, ARNm) u otro componente. En determinadas formas de realización, se mide el componente lipídico, ARN o ácido nucleico encapsulado con lípidos del LNP.

La clearance de lípidos puede medirse como se describe en la literatura. Ver Maier, M.A., et al. Lípidos biodegradables que permiten la eliminación rápida de nanopartículas lipídicas para el suministro sistémico de terapias RNAi. Mol. El r. 2013, 21 (8), 1570–78 ("Maier"). Por ejemplo, en Maier, los sistemas LNP–siRNA que contienen luciferasas dirigidas a siRNA se administraron a ratones C57Bl/6 machos de seis a ocho semanas de edad a 0,3 mg/kg mediante inyección intravenosa en bolo a través de la vena lateral de la cola. Se recogieron muestras de sangre, hígado y bazo a las 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 96 y 168 horas después de la dosis. Los ratones se perfundieron con solución salina antes de la recolección de tejido y se procesaron muestras de sangre para obtener plasma. Todas las muestras fueron procesadas y analizadas por LC–MS. Además, Maier describe un procedimiento para evaluar la toxicidad después de la administración de formulaciones de LNP–ARNip. Por ejemplo, se administró un ARNip dirigido a la luciferasa a 0, 1, 3, 5 y 10 mg/kg (5 animales/grupo) mediante una inyección de bolo intravenoso único en un volumen de dosis de 5 ml/kg a ratas Sprague–Dawley macho. Después de 24 horas, se obtuvo aproximadamente 1 ml de sangre de la vena yugular de animales conscientes y se aisló el suero. A las 72 horas posteriores a la dosis, todos los animales se sometieron a eutanasia para realizar una autopsia. Se realizó evaluación de signos clínicos, peso corporal, química del suero, peso de órganos e histopatología. Aunque Maier describe métodos para evaluar formulaciones de

ARNip–LNP, estos métodos pueden aplicarse para evaluar la clearance, la farmacocinética y la toxicidad de la administración de las composiciones de LNP de la presente descripción.

Los lípidos de la amina conducen a una mayor tasa de eliminación. En algunas formas de realización, la tasa de clearance es una tasa de clearance de lípidos, por ejemplo la tasa a la que un lípido de amina se elimina de la sangre, suero o plasma. En algunas formas de realización, la tasa de depuración es una tasa de depuración de ARN, por ejemplo, la tasa a la que se elimina una ARNm o un gARN de la sangre, el suero o el plasma. En algunas formas de realización, la tasa de depuración es la tasa a la que se elimina la LNP de la sangre, el suero o el plasma. En algunas formas de realización, la tasa de depuración es la tasa a la que se elimina el LNP de un tejido, como el tejido hepático o el tejido del bazo. En determinadas formas de realización, una alta tasa de eliminación conduce a un perfil de seguridad sin efectos adversos sustanciales. Los lípidos de la amina reducen la acumulación de LNP en la circulación y en los tejidos. En algunas formas de realización, una reducción en la acumulación de LNP en la circulación y en los tejidos conduce a un perfil de seguridad sin efectos adversos sustanciales.

Los lípidos de amina de la presente descripción pueden ser ionizables dependiendo del pH del medio en el que se encuentran. Por ejemplo, en un medio ligeramente ácido, los lípidos de amina pueden protonarse y, por lo tanto, tener una carga positiva. A la inversa, en un medio ligeramente básico, como, por ejemplo, la sangre donde el pH es aproximadamente de 7,35, los lípidos de la amina pueden no estar protonados y, por lo tanto, no tener carga. En algunas formas de realización, los lípidos de amina de la presente divulgación pueden protonarse a un pH de al menos aproximadamente 9. En algunas formas de realización, los lípidos de amina de la presente divulgación pueden protonarse a un pH de al menos aproximadamente 9. En algunas formas de realización, los

lípidos de amina de la presente descripción pueden protonarse a un pH de al menos aproximadamente 10.

La capacidad de un lípido de amina para llevar una carga está relacionada con su pKa intrínseco. Por ejemplo, los lípidos de amina de la presente divulgación pueden tener cada uno, independientemente, un pKa en el intervalo de aproximadamente 5,8 a aproximadamente 6,2. Por ejemplo, los lípidos de amina de la presente divulgación pueden tener cada uno, independientemente, un pKa en el intervalo de aproximadamente 5,8 a aproximadamente 6,5. Esto puede ser ventajoso ya que se ha encontrado que los lípidos catiónicos con un pKa que varía de aproximadamente 5,1 a aproximadamente 7,4 son efectivos para la entrega de carga in vivo, por ejemplo al hígado. Además, se ha encontrado que los lípidos catiónicos con un pKa que varía de aproximadamente 5,3 a aproximadamente 6,4 son eficaces para el suministro in vivo, v.g. a los tumores. Véase, por ejemplo, el documento WO2014/136086.

Lípidos adicionales

Los "lípidos neutros" adecuados para su uso en una composición lipídica de la divulgación incluyen, por ejemplo, una variedad de lípidos neutros, no cargados o zwitteriónicos. Los ejemplos de fosfolípidos neutros adecuados para su uso en la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, 5–heptadecilbenceno–1,3–diol (resorcinol), dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), distearoilfosfatidilcolina (DSPC), fosfocolina (DOPC), dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), fosfatidilcolina (PLPC), 1,2–distearoil–sn–glicero–3–fosfocolina (DAPC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilcolina de huevo (EPC), dilauriloilfosfatidilcolina (DLPC), dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), 1–miristoil–2–palmitoil fosfatidilcolina (MPPC), 1–palmitoil–2–miristoil fosfatidilcolina (PMPC), 1–palmitoil–2–estearoil fosfatidilcolina (PSPC), 1,2–diaraquidoil–sn–glicero–3–fosfocolina (DBPC), 1–

estearoil–2–palmitoil fosfatidilcolina (SPPC), 1,2–dieicosenoil–sn–glicero–3–fosfocolina (DEPC), palmitoiloleoil fosfatidilcolina (POPC), lisofosfatidilcolina, dioleoil fosfatidiletanolamina (DOPE), dilinoleoilfosfatidilcolina diestearoilfosfatidiletanolamina (DSPE), dimiristoil fosfatidiletanolamina (DMPE), dipalmitoil fosfatidiletanolamina (DPPE), palmitoiloleoil fosfatidiletanolamina (POPE), lisofosfatidiletanolamina y sus combinaciones. En una forma de realización, el fosfolípido neutro se puede seleccionar del grupo que consiste en diestearoilfosfatidilcolina (DSPC) y dimiristoil fosfatidil etanolamina (DMPE). En otra forma de realización, el fosfolípido neutro puede ser diestearoilfosfatidilcolina (DSPC).

Los "lípidos auxiliares" incluyen esteroides, esteroles y resorcinoles de alquilo. Los lípidos auxiliares adecuados para uso en la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, colesterol, 5–heptadecilresorcinol y hemisuccinato de colesterol. En una forma de realización, el lípido auxiliar puede ser colesterol. En una forma de realización, el lípido auxiliar puede ser hemisuccinato de colesterol.

Los "lípidos sigilosos" son lípidos que alteran el tiempo durante el cual las nanopartículas pueden existir in vivo (por ejemplo, en la sangre). Los lípidos sigilosos pueden ayudar en el proceso de formulación, por ejemplo, reduciendo la agregación de partículas y controlando el tamaño de las partículas. Los lípidos sigilosos aquí utilizados pueden modular las propiedades farmacocinéticas de la LNP. Los lípidos sigilosos adecuados para uso en una composición lipídica de la divulgación incluyen, pero no se limitan a, lípidos sigilosos que tienen un grupo principal hidrofílico unido a un resto lipídico. Los lípidos sigilosos adecuados para su uso en una composición lipídica de la presente divulgación e información sobre la bioquímica de tales lípidos se pueden encontrar en Romberg et al., Pharmaceutical Research, vol. 25, No. 1, 2008, pág. 55–71 y Hoekstra et al.,

Biochimica et Biophysica Acta 1660 (2004) 41–52. Se describen lípidos PEG adecuados adicionales, por ejemplo, en el documento WO 2006/007712.

En una forma de realización, el grupo principal hidrofílico del lípido oculto comprende un resto de polímero seleccionado de polímeros basados en PEG. Los lípidos sigilosos pueden comprender un resto lipídico. En algunas formas de realización, el lípido sigiloso es un lípido PEG.

En una forma de realización, un lípido oculto comprende un resto de polímero seleccionado de polímeros basados en PEG (a veces denominado poli(óxido de etileno)), poli(oxazolina), poli(alcohol vinílico), poli(glicerol), poli(N–vinilpirrolidona), poliaminoácidos y poli [N– (2–hidroxipropil) metacrilamida].

En una forma de realización, el lípido PEG comprende un resto de polímero basado en PEG (a veces denominado poli(óxido de etileno)).

El lípido PEG comprende además un resto lipídico. En algunas formas de realización, el resto lipídico puede derivarse de diacilglicerol o diacilglicida, incluyendo aquellos que comprenden un grupo dialquilglicerol o dialquilglicida que tiene una longitud de cadena alquilo que comprende independientemente de aproximadamente C4 a aproximadamente C40 átomos de carbono saturados o insaturados, en donde la cadena puede comprender uno o más grupos funcionales tales como, por ejemplo, una amida o un éster. En algunas formas de realización, la longitud de la cola de alquilo comprende aproximadamente C10 a C20. El grupo dialquilglicerol o dialquilglicida puede comprender además uno o más grupos alquilo sustituidos. Las longitudes de las cadenas pueden ser simétricas o asimétricas.

A menos que se indique lo contrario, el término "PEG" como se usa en este documento significa cualquier polietilenglicol u otro polímero de éter de polialquileno. En una forma de realización, PEG es un polímero lineal o ramificado opcionalmente sustituido de etilenglicol u óxido de etileno. En una forma de

realización, el PEG no está sustituido. En una forma de realización, el PEG está sustituido, por ejemplo, por uno o más grupos alquilo, alcoxi, acilo, hidroxi o arilo. En una forma de realización, el término incluye copolímeros de PEG tales como PEG–poliuretano o PEG–polipropileno (véase, por ejemplo, J. Milton Harris, química de poli(etilenglicol): aplicaciones biotecnológicas y biomédicas (1992)); en otra realización, el término no incluye copolímeros de PEG. En una forma de realización, el PEG tiene un peso molecular de aproximadamente 130 a aproximadamente 50.000, en una forma de realización secundaria, aproximadamente 150 a aproximadamente 30.000, en una forma de realización secundaria, aproximadamente 150 a aproximadamente 20.000, en una forma de realización secundaria de aproximadamente 150 a aproximadamente 15.000, en una subforma de realización, aproximadamente 150 a aproximadamente 10.000, en una subforma de realización, aproximadamente 150 a aproximadamente 6.000, en una subforma de realización, aproximadamente 150 a aproximadamente 5.000, en una subforma de realización, aproximadamente 150 a aproximadamente 4.000, en una subforma de realización, aproximadamente 150 a aproximadamente 3.000, en una subforma de realización, aproximadamente 300 a aproximadamente 3.000, en una subforma de realización, aproximadamente 1.000 a aproximadamente 3.000, y en una subforma de realización, aproximadamente 1.500 a aproximadamente 2.500.

En determinadas formas de realización, el PEG (por ejemplo, conjugado a un resto lipídico o lípido, como un lípido oculto), es un "PEG–2K", también denominado "PEG 2000", que tiene un peso molecular promedio de aproximadamente 2000 daltons. PEG–2K se representa aquí mediante la siguiente fórmula (I), en la que n es 45, lo que significa que el grado de polimerización promedio en número comprende aproximadamente 45 subunidades. Sin embargo, se pueden usar otras formas de realización de PEG

conocidas en la técnica, que incluyen, por ejemplo, aquellas en las que el grado de polimerización promedio en número comprende aproximadamente 23 subunidades (n = 23) y/o 68 subunidades (n = 68). En algunas formas de realización, n puede variar de aproximadamente 30 a aproximadamente 60. En algunas formas de realización, n puede variar de aproximadamente 35 a aproximadamente 55. En algunas formas de realización, n puede variar de aproximadamente 40 a aproximadamente 50. En algunas formas de realización, n puede variar de aproximadamente 42 a aproximadamente 48. En algunas formas de realización, n puede ser 45. En algunas formas de realización, R puede seleccionarse de H, alquilo sustituido y alquilo no sustituido. En algunas formas de realización, R puede ser alquilo no sustituido. En algunas formas de realización, R puede ser metilo.

En cualquiera de las formas de realización descritas en el presente documento, el lípido PEG se puede seleccionar entre PEG–dilauroilglicerol, PEG–dimiristoilglicerol (PEG–DMG) (número de catálogo GM–020 de NOF, Tokio, Japón), PEG–dipalmitoilglicerol, PEG distearoilglicerol (PEG–DSPE) (n.° de catálogo DSPE–020CN, NOF, Tokio, Japón), PEG–dilaurilglicida, PEG–dimiristilglicida, PEG–dipalmitoilglicamida y PEG–diestearoilglicamida, PEG–colesterol (1–)–5–en–3[beta]–oxi)carboxamido–3',6'–dioxaoctanil]carbamoil–[omega]–metil–poli(etilenglicol), PEG–DMB (3,4–ditetradecoxilbencil–[omega]–metil–poli(etilenglicol)éter), 1,2–dimiristoil–sn–glicero–3–fosfoetanolamina–N–[metoxi(polietilenglicol)–2000] (PEG2k–DMG) (cat. # 880150P de Avanti Polar Lipids, Alabaster), Alabama, EE. UU.), 1,2–diestearoil–sn–glicero–3–fosfoetanolamina–N–[metoxi(polietilenglicol)–2000] (PEG2k–DSPE) (nº de catálogo 880120C de Avanti Polar Lipids, Alabaster, Alabama, EE. UU.), 1,2–distearoil–sn–glicerol, metoxipolietilenglicol (PEG2k–DSG; GS– 020, NOF Tokio, Japón), poli(etilenglicol)–2000–dimetacrilato (PEG2k–DMA), y 1,2–

diestheariloxipropil–3–amina–N–[metoxi(polietilenglicol)–2000] (PEG2k–DSA). En una forma de realización, el lípido PEG puede ser PEG2k–DMG. En algunas formas de realización, el lípido PEG puede ser PEG2k–DSG. En una forma de realización, el lípido PEG puede ser PEG2k–DSPE. En una forma de realización, el lípido PEG puede ser PEG2k–DMA. En una forma de realización, el lípido PEG puede ser PEG2k–C–DMA. En una forma de realización, el lípido PEG puede ser el compuesto S027, descrito en el documento WO2016/010840 (párrafos [00240] a [00244]). En una forma de realización, el lípido PEG puede ser PEG2k–DSA. En una forma de realización, el lípido PEG puede ser PEG2k–C11. En algunas formas de realización, el lípido PEG puede ser PEG2k–C14. En algunas formas de realización, el lípido PEG puede ser PEG2k–C16. En algunas formas de realización, el lípido PEG puede ser PEG2k–C18.

El LNP puede contener (i) un lípido de amina para la encapsulación y para el escape endosomal, (ii) un lípido neutro para la estabilización, (iii) un lípido auxiliar, también para la estabilización, y (iv) un lípido oculto, como Un lípido PEG.

En algunas formas de realización, una composición de LNP puede comprender un componente de ARN que incluye uno o más de un agente de unión a ADN guiado por ARN, un ARNm de Cas nucleasa, un ARNm de Cas nucleasa de Clase 2, un ARNm de Cas9 y un ARNm. En algunas formas de realización, una composición de LNP puede incluir una Cas nucleasa de Clase 2 y un ARNg como el componente de ARN. En determinadas formas de realización, una composición de LNP puede comprender el componente de ARN, un lípido de amina, un lípido auxiliar, un lípido neutro y un lípido oculto. En ciertas composiciones de LNP, el lípido auxiliar es el colesterol. En otras composiciones, el lípido neutro es DSPC. En formas de realización adicionales, el lípido sigiloso es PEG2k–DMG o PEG2k–C11. En determinadas formas de realización, la composición de LNP comprende el lípido A o un equivalente de lípido A; un lípido

ayudante; un lípido neutro; un lípido oculto; y una guía de ARN. En ciertas composiciones, el lípido amina es el lípido A. En ciertas composiciones, el lípido amina es el lípido A o un análogo de acetal del mismo; El lípido auxiliar es el colesterol; el lípido neutro es DSPC; y el lípido sigiloso es PEG2k–DMG.

En determinadas formas de realización, las composiciones de lípidos se describen de acuerdo con las relaciones molares respectivas de los lípidos componentes en la formulación. Las formas de realización de la presente divulgación proporcionan composiciones lipídicas descritas según las respectivas relaciones molares de los lípidos componentes en la formulación. En una forma de realización, el % en moles del lípido de amina puede ser de aproximadamente 30% en moles a aproximadamente 60% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido de amina puede ser de aproximadamente 40% en moles a aproximadamente 60% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido de amina puede ser de aproximadamente 45% en moles a aproximadamente 60% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido de amina puede ser de aproximadamente 50% en moles a aproximadamente 60% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido de amina puede ser de aproximadamente 55% en moles a aproximadamente 60% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido de amina puede ser de aproximadamente 50% en moles a aproximadamente 55% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido de amina puede ser aproximadamente 50% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido de amina puede ser aproximadamente 55% en moles. En algunas formas de realización, el % en moles del lípido de amina del lote de LNP será ± 30%, ± 25%, ± 20%, ± 15%, ± 10%, ± 5% o ± 2,5% del % en moles objetivo. En algunas formas de realización, el % en moles del lípido de amina del lote de LNP será ± 4% en moles, ± 3% en moles, ± 2% en moles, ±

1,5% en moles, ± 1% en moles, ± 0,5% en moles. %, o ± 0,25 % en moles del % en moles objetivo. Todos los números en moles se dan como una fracción del componente lipídico de las composiciones de LNP. En determinadas formas de realización, la variabilidad entre lotes de LNP de la amina lipídica en moles% será inferior al 15%, inferior al 10% o inferior al 5%.

En una forma de realización, el % en moles del lípido neutro puede ser de aproximadamente 5% en moles a aproximadamente 15% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido neutro puede ser de aproximadamente 7% en moles a aproximadamente 12% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido neutro puede ser aproximadamente 9% en moles. En algunas formas de realización, el % en moles de lípido neutro del lote de LNP será ± 30%, ± 25%, ± 20%, ± 15%, ± 10%, ± 5% o ± 2,5% en moles de lípido neutro objetivo. –%. En determinadas formas de realización, la variabilidad entre lotes de LNP será inferior al 15%, inferior al 10% o inferior al 5%.

En una forma de realización, el % en moles del lípido auxiliar puede ser de aproximadamente 20% en moles a aproximadamente 60% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido auxiliar puede ser de aproximadamente 25% en moles a aproximadamente 55% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido auxiliar puede ser de aproximadamente 25% en moles a aproximadamente 50% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido auxiliar puede ser de aproximadamente 25% en moles a aproximadamente 40% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido auxiliar puede ser de aproximadamente 30% en moles a aproximadamente 50% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido auxiliar puede ser de aproximadamente 30% en moles a aproximadamente 40% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido auxiliar se ajusta en base a las

concentraciones de lípido amina, lípido neutro y lípido PEG para llevar el componente lipídico al 100% en moles. En algunas formas de realización, el % en moles auxiliar del lote de LNP será ± 30%, ± 25%, ± 20%, ± 15%, ± 10%, ± 5% o ± 2,5% del% en moles objetivo. En determinadas formas de realización, la variabilidad entre lotes de LNP será inferior al 15%, inferior al 10% o inferior al 5%.

En una forma de realización, el % en moles del lípido PEG puede ser de aproximadamente 1% en moles a aproximadamente 10% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido PEG puede ser de aproximadamente 2% en moles a aproximadamente 10% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido PEG puede ser de aproximadamente 2% en moles a aproximadamente 8% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido PEG puede ser de aproximadamente 2% en moles a aproximadamente 4% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido PEG puede ser de aproximadamente 2,5% en moles a aproximadamente 4% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido PEG puede ser aproximadamente 3% en moles. En una forma de realización, el % en moles del lípido PEG puede ser aproximadamente 2,5% en moles. En algunas formas de realización, el % en moles del lípido PEG del lote de LNP será de ± 30%, ± 25%, ± 20%, ± 15%, ± 10%, ± 5% o ± 2,5% del mol de lípidos PEG objetivo. En determinadas formas de realización, la variabilidad entre lotes de LNP será inferior al 15%, inferior al 10% o inferior al 5%.

En determinadas formas de realización, la carga incluye un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN (por ejemplo, una Cas nucleasa, una Cas nucleasa de clase 2 o Cas9) y un ARNc o un ácido nucleico que codifica un ARNg, o combinación de ARNm y ARNg. En una forma de realización, una composición de LNP puede comprender un lípido A o sus

equivalentes. En algunos aspectos, el lípido de la amina es el lípido A. En algunos aspectos, el lípido de la amina es un equivalente del lípido A, por ejemplo un análogo de lípido A. En ciertos aspectos, el lípido de amina es un análogo de acetal del lípido A. En diversas formas de realización, una composición de LNP comprende un lípido de amina, un lípido neutro, un lípido auxiliar y un lípido de PEG. En determinadas formas de realización, el lípido auxiliar es el colesterol. En determinadas formas de realización, el lípido neutro es DSPC. En formas de realización específicas, el lípido PEG es PEG2k–DMG. En algunas formas de realización, una composición de LNP puede comprender un lípido A, un lípido auxiliar, un lípido neutro y un lípido PEG. En algunas formas de realización, una composición de LNP comprende un lípido de amina, DSPC, colesterol y un lípido de PEG. En algunas formas de realización, la composición de LNP comprende un lípido PEG que comprende DMG. En determinadas formas de realización, el lípido amina se selecciona de lípido A, y un equivalente de lípido A, que incluye un análogo de acetal de lípido A. En formas de realización adicionales, una composición de LNP comprende lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k–DMG.

Las formas de realización de la presente divulgación también proporcionan composiciones lipídicas descritas según la relación molar entre los grupos amina cargados positivamente del lípido de la amina (N) y los grupos fosfato cargados negativamente (P) del ácido nucleico a encapsular. Esto puede ser representado matemáticamente por la ecuación N/P. En algunas formas de realización, una composición de LNP puede comprender un componente lipídico que comprende un lípido de amina, un lípido auxiliar, un lípido neutro y un lípido auxiliar; y un componente de ácido nucleico, en el que la relación N/P es de aproximadamente 3 a 10. En algunas formas de realización, una composición de LNP puede comprender un componente lipídico que comprende un lípido de amina, un lípido auxiliar, un lípido neutro y un lípido auxiliar; y un componente de ARN, en el que

la relación N/P es de aproximadamente 3 a 10. En una forma de realización, la relación N/P puede ser de aproximadamente 5–7. En una forma de realización, la relación N/P puede ser de aproximadamente 4,5–8. En una forma de realización, la relación N/P puede ser de aproximadamente 6. En una forma de realización, la relación N/P puede ser de 6 ± 1. En una forma de realización, la relación N/P puede ser de aproximadamente 6 ± 0,5. En algunas formas de realización, la relación N/P será de ± 30%, ± 25%, ± 20%, ± 15%, ± 10%, ± 5% o ± 2,5% de la relación N/P objetivo. En determinadas formas de realización, la variabilidad entre lotes de LNP será inferior al 15%, inferior al 10% o inferior al 5%.

En algunas formas de realización, el componente de ARN puede comprender un ARNm, tal como un ARNm descrito en el presente documento, por ejemplo, que codifica una Cas nucleasa. En una forma de realización, el componente de ARN puede comprender un ARNm de Cas9. En algunas composiciones que comprenden un ARNm que codifica una Cas nucleasa, el LNP comprende además un ácido nucleico de ARNm, tal como un ARNm. En algunas formas de realización, el componente de ARN comprende un ARNm de Cas nucleasa y un ARNm. En algunas formas de realización, el componente de ARN comprende un ARNm de Cas nucleasa de Clase 2 y un ARNm.

En determinadas formas de realización, una composición de LNP puede comprender un ARNm que codifica una Cas nucleasa, tal como una Cas nucleasa de Clase 2, un lípido de amina, un lípido auxiliar, un lípido neutro y un lípido de PEG. En ciertas composiciones de LNP que comprenden un ARNm que codifica una Cas nucleasa, tal como una Cas nucleasa de Clase 2, el lípido auxiliar es el colesterol. En otras composiciones que comprenden un ARNm que codifica una Cas nucleasa tal como una Cas nucleasa de Clase 2, el lípido neutro es DSPC. En formas de realización adicionales que comprenden un ARNm que codifica una Cas nucleasa tal como una Cas nucleasa de Clase 2, el lípido PEG es PEG2k–

DMG o PEG2k–C11. En composiciones específicas que comprenden un ARNm que codifica una Cas nucleasa tal como una Cas nucleasa clase 2, el lípido amina se selecciona de Lípido A y sus equivalentes, como un análogo de acetal del Lípido A.

En algunas formas de realización, una composición de LNP puede comprender un gARN. En determinadas formas de realización, una composición de LNP puede comprender un lípido de amina, un gARN, un lípido auxiliar, un lípido neutro y un lípido de PEG. En ciertas composiciones de LNP que comprenden un gARN, el lípido auxiliar es el colesterol. En algunas composiciones que comprenden un gARN, el lípido neutro es DSPC. En formas de realización adicionales que comprenden un gARN, el lípido PEG es PEG2k–DMG o PEG2k–C11. En determinadas formas de realización, el lípido amina se selecciona de lípido A y sus equivalentes, como un análogo de acetal de lípido A.

En una forma de realización, una composición de LNP puede comprender un sgARN. En una forma de realización, una composición de LNP puede comprender un ARNg de Cas9. En una forma de realización, una composición de LNP puede comprender un sgARN de Cpf1. En algunas composiciones que comprenden un sgARN, el LNP incluye un lípido amina, un lípido auxiliar, un lípido neutro y un lípido PEG. En ciertas composiciones que comprenden un sgARN, el lípido auxiliar es el colesterol. En otras composiciones que comprenden un sgARN, el lípido neutro es DSPC. En formas de realización adicionales que comprenden un sgARN, el lípido PEG es PEG2k–DMG o PEG2k–C11. En determinadas formas de realización, el lípido amina se selecciona de lípido A y sus equivalentes, tales como análogos de acetal de lípido A.

En determinadas formas de realización, una composición de LNP comprende un ARNm descrito en el presente documento, por ejemplo, que codifica una Cas nucleasa y un ARNc, que puede ser un ARNgg. En una forma de

realización, una composición de LNP puede comprender un lípido de amina, un ARNm que codifica una Cas nucleasa, un ARNc, un lípido auxiliar, un lípido neutro y un lípido de PEG. En ciertas composiciones que comprenden un ARNm que codifica una Cas nucleasa y un ARNm, el lípido auxiliar es el colesterol. En algunas composiciones que comprenden un ARNm que codifica una Cas nucleasa y un ARNm, el lípido neutro es DSPC. En formas de realización adicionales que comprenden un ARNm que codifica una Cas nucleasa y un gARN, el lípido PEG es PEG2k–DMG o PEG2k–C11. En determinadas formas de realización, el lípido amina se selecciona de lípido A y sus equivalentes, tales como análogos de acetal de lípido A.

En determinadas formas de realización, las composiciones de LNP incluyen un ARNm de Cas nucleasa, tal como un ARNm de Cas de Clase 2 y al menos un ARNm. En determinadas formas de realización, la composición de LNP incluye una proporción de gARN a ARNm de Cas nucleasa, tal como ARNm de Cas nucleasa de Clase 2 desde aproximadamente 25: 1 hasta aproximadamente 1:25. En determinadas formas de realización, la formulación de LNP incluye una proporción de ARNg a ARNm de Cas nucleasa, tal como ARNm de Cas nucleasa de Clase 2 desde aproximadamente 10: 1 hasta aproximadamente 1:10. En determinadas formas de realización, la formulación de LNP incluye una proporción de ARNg a ARNm de Cas nucleasa, tal como ARNm de Cas nucleasa de Clase 2 de aproximadamente 8: 1 a aproximadamente 1: 8. Como se mide aquí, las relaciones son en peso. En algunas formas de realización, la formulación de LNP incluye una proporción de ARNg a ARNm de Cas nucleasa, tal como ARNm de Cas de Clase 2 de aproximadamente 5: 1 a aproximadamente 1: 5. En algunas formas de realización, el rango de relación es aproximadamente 3: 1 a 1: 3, aproximadamente 2: 1 a 1: 2, aproximadamente 5: 1 a 1: 2, aproximadamente 5: 1 a 1: 1, aproximadamente 3: 1 a 1: 2, aproximadamente 3: 1 a 1: 1,

aproximadamente 3: 1, aproximadamente 2: 1 a 1: 1. En algunas formas de realización, la proporción de gARN a ARNm es aproximadamente 3: 1 o aproximadamente 2: 1. En algunas formas de realización, la relación de gARN a Cas nucleasa, como la Cas nucleasa de Clase 2, es aproximadamente 1: 1. La relación puede ser de aproximadamente 25: 1, 10: 1, 5: 1, 3: 1, 1: 1, 1: 3, 1: 5, 1:10 ó 1:25.

Las composiciones de LNP descritas en el presente documento pueden incluir un ácido nucleico molde. La plantilla de ácido nucleico puede coformularse con un ARNm que codifica una Cas nucleasa, tal como un ARNm Cas nucleasa de Clase 2. En algunas formas de realización, el ácido nucleico de la plantilla se puede co–formular con un ARN guía. En algunas formas de realización, el ácido nucleico de la plantilla puede formularse conjuntamente con un ARNm que codifica una Cas nucleasa y un ARN guía. En algunas formas de realización, el ácido nucleico molde se puede formular por separado a partir de un ARNm que codifica una Cas nucleasa o un ARN guía. La plantilla de ácido nucleico puede suministrarse con, o por separado, de las composiciones de LNP. En algunas formas de realización, el ácido nucleico molde puede ser monocatenario o bicatenario, dependiendo del mecanismo de reparación deseado. La plantilla puede tener regiones de homología con el ADN objetivo, o con secuencias adyacentes al ADN objetivo.

Cualquiera de las formulaciones de LNP y LNP descritas en el presente documento son adecuadas para la administración de un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN tal como una Cas nucleasa, solo o junto con uno o más ARN guía. En algunas formas de realización, se abarca una composición de LNP que comprende: un componente de ARN y un componente lipídico, en el que el componente lipídico comprende un lípido amina, un lípido

neutro, un lípido auxiliar y un lípido furtivo; y en la que la relación N/P es aproximadamente 1–10.

En algunos casos, el componente lipídico comprende el lípido A o su análogo de acetal, colesterol, DSPC y PEG–DMG; y en la que la relación N/P es aproximadamente 1–10. En algunas formas de realización, el componente lipídico comprende: aproximadamente 40–60% en moles de lípido de amina; aproximadamente 5–15% en moles de lípido neutro; y aproximadamente 1,5–10% en moles de lípido de PEG, en donde el resto del componente lipídico es lípido auxiliar, y en donde la relación N/P de la composición de LNP es aproximadamente 3–10. En algunas formas de realización, el componente lipídico comprende: aproximadamente 50–60% en moles de lípido de amina; aproximadamente 8–10% en moles de lípido neutro; y aproximadamente 2,5–4% en moles de lípido de PEG, en donde el resto del componente lipídico es lípido auxiliar, y en donde la relación N/P de la composición de LNP es de aproximadamente 3–8. En algunos casos, el componente lipídico comprende: aproximadamente 50–60% en moles de lípido de amina; aproximadamente 5–15% en moles de DSPC; y aproximadamente 2,5–4% en moles de lípido de PEG, en el que el resto del componente lipídico es colesterol, y en el que la relación N/P de la composición de LNP es aproximadamente 3–8. En algunos casos, el componente lipídico comprende: 48–53% en moles de lípido A; aproximadamente 8–10% en moles de DSPC; y 1,5–10% en moles de lípido de PEG, en donde el resto del componente lipídico es colesterol, y en donde la relación N/P de la composición de LNP es 3–8 ± 0,2.

En algunas formas de realización, los LNP se forman mezclando una solución de ARN acuosa con una solución de lípidos a base de disolvente orgánico, por ejemplo, 100% de etanol. Las soluciones o disolventes adecuados incluyen o pueden contener: agua, PBS, tampón Tris, NaCl, tampón citrato,

etanol, cloroformo, éter dietílico, ciclohexano, tetrahidrofurano, metanol, isopropanol. Se puede usar un tampón farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, para la administración in vivo de LNPs. En determinadas formas de realización, se usa un tampón para mantener el pH de la composición que comprende LNPs a pH 6,5 o superior. En determinadas formas de realización, se usa un tampón para mantener el pH de la composición que comprende LNPs a pH 7,0 o superior. En determinadas formas de realización, la composición tiene un pH que varía de aproximadamente 7,2 a aproximadamente 7,7. En formas de realización adicionales, la composición tiene un pH que varía de aproximadamente 7,3 a aproximadamente 7,7 o que varía de aproximadamente 7,4 a aproximadamente 7,6. En formas de realización adicionales, la composición tiene un pH de aproximadamente 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6 o 7,7. El pH de una composición puede medirse con una microsonda de pH. En determinadas formas de realización, se incluye un crioprotector en la composición. Los ejemplos no limitantes de crioprotectores incluyen sacarosa, trehalosa, glicerol, DMSO y etilenglicol. Las composiciones de ejemplo pueden incluir hasta un 10% de crioprotector, tal como, por ejemplo, sacarosa. En determinadas formas de realización, la composición de LNP puede incluir aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10% de crioprotector. En determinadas formas de realización, la composición de LNP puede incluir aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10% de sacarosa. En algunas formas de realización, la composición de LNP puede incluir un tampón. En algunas formas de realización, el tampón puede comprender un tampón fosfato (PBS), un tampón Tris, un tampón citrato y mezclas de los mismos. En determinadas formas de realización de ejemplo, el tampón comprende NaCl. En ciertas formas de realización, se omite el NaCl. Cantidades de ejemplo de NaCl pueden variar desde aproximadamente 20 mM hasta aproximadamente 45 mM. Cantidades de ejemplo de NaCl pueden variar desde

aproximadamente 40 mM hasta aproximadamente 50 mM. En algunas formas de realización, la cantidad de NaCl es aproximadamente 45 mM. En algunas formas de realización, el tampón es un tampón Tris. Cantidades de ejemplo de Tris pueden variar desde aproximadamente 20 mM hasta aproximadamente 60 mM. Cantidades de ejemplo de Tris pueden variar desde aproximadamente 40 mM hasta aproximadamente 60 mM. En algunas formas de realización, la cantidad de Tris es de aproximadamente 50 mM. En algunas formas de realización, el tampón comprende NaCl y Tris. Ciertas formas de realización de ejemplo de las composiciones de LNP contienen 5% de sacarosa y 45 mM de NaCl en tampón Tris. En otras formas de realización de ejemplo, las composiciones contienen sacarosa en una cantidad de aproximadamente 5% p/v, aproximadamente 45 mM de NaCl y aproximadamente 50 mM de Tris a pH 7,5. Las cantidades de sal, tampón y crioprotector pueden variarse de modo que se mantenga la osmolalidad de la formulación global. Por ejemplo, la osmolalidad final se puede mantener a menos de 450 mOsm/L. En otras formas de realización, la osmolalidad es entre 350 y 250 mOsm/L. Ciertas formas de realización tienen una osmolalidad final de 300 +/– 20 mOsm/L.

En algunas formas de realización, se usa la mezcla microfluídica, la mezcla en T o la mezcla cruzada. En ciertos aspectos, se pueden variar las velocidades de flujo, el tamaño de la unión, la geometría de la unión, la forma de la unión, el diámetro del tubo, las soluciones y/o las concentraciones de ARN y lípidos. Las composiciones de LNP o LNP pueden concentrarse o purificarse, por ejemplo, mediante diálisis, filtración de flujo tangencial o cromatografía. Los LNP se pueden almacenar como una suspensión, una emulsión o un polvo liofilizado, por ejemplo. En algunas formas de realización, una composición de LNP se almacena a 2–8 °C, en ciertos aspectos, las composiciones de LNP se almacenan a temperatura ambiente. En formas de realización adicionales, una composición de

LNP se almacena congelada, por ejemplo a –20 °C u –80 °C. En otras formas de realización, una composición de LNP se almacena a una temperatura que oscila entre aproximadamente 0 °C y aproximadamente –80 °C. Las composiciones de LNP pueden descongelarse antes de su uso, por ejemplo, en hielo, a 4 °C, a temperatura ambiente o a 25 °C. Las composiciones de LNP congeladas se pueden mantener a varias temperaturas, por ejemplo, en hielo, a 4 °C, en la temperatura ambiente, a 25 °C, o a 37 °C.

En algunas formas de realización, una composición de LNP tiene más de aproximadamente el 80% de encapsulación. En algunas formas de realización, una composición de LNP tiene un tamaño de partícula inferior a aproximadamente 120 nm. En algunas formas de realización, una composición de LNP tiene un pdi menor que aproximadamente 0,2. En algunas formas de realización, al menos dos de estas características están presentes. En algunas formas de realización, cada una de estas tres características está presente. Los métodos analíticos para determinar estos parámetros se analizan a continuación en la sección de reactivos y métodos generales.

En algunas formas de realización, los LNP asociados con un ARNm descrito en el presente documento son para uso en la preparación de un medicamento.

La electroporación también es un medio bien conocido para la entrega de carga, y cualquier metodología de electroporación se puede usar para la entrega de uno cualquiera de los ARNg descritos en el presente documento. En algunas formas de realización, la electroporación se puede usar para administrar un ARNm descrito en el presente documento y uno o más ARN guía.

En algunas formas de realización, se proporciona un método para administrar un ARNm descrito en el presente documento a una célula ex vivo, en el que el ARNm está asociado con un LNP o no está asociado con un LNP. En

algunas formas de realización, el ARNm/LNP o ARNm también está asociado con uno o más ARN guía.

En algunas formas de realización, cuando un ARNm descrito en el presente documento se administra a un mamífero en una composición farmacéutica, el mamífero exhibe una respuesta de citoquinas al menos 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6. 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 ó 10 veces menor que un mamífero a quien se le administró un ARNm que codifica una Cas9 nucleasa con más del 150% del contenido mínimo de uridina. Una respuesta de citoquina se puede determinar como se describe en los Ejemplos. Una diferencia entre las respuestas de citoquinas se puede medir como el cambio promedio en un panel de citoquinas como al menos una, dos, tres o cuatro de las siguientes citoquinas: IFN alfa, IL–6, TNF alfa y MCP–1. En algunas formas de realización, cuando un ARNm divulgado en el presente documento se administra a un mamífero en una composición farmacéutica, el mamífero exhibe una respuesta de citoquinas al menos 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 ó 10 veces más bajo que un mamífero a quien se le administró un ARNm que tiene un ORF que codifica una Cas9 nucleasa, en donde la secuencia del ORF consiste en la SEQ ID NO: 5. En algunas formas de realización, las uridinas en el ORF con una secuencia que consiste en la SEQ ID NO: 5 no están modificadas. En general, se entiende que las características de la composición comparativa que no sea el ARNm deben mantenerse constantes, incluida la dosis, y que la dosis debe estar en un rango apropiado tal como 0,1–5 mpk u otros rangos descritos en este documento (por ejemplo, como se analiza) en la sección Determinación de la eficacia de ARNm).

En algunas formas de realización, la secuencia de nucleótidos que codifica el ARN guía puede estar localizada en el mismo vector, transcripción o ARNm que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica el agente de unión al ADN guiado por ARN. En algunas formas de realización, la expresión del ARN guía y

del agente de unión al ADN guiado por ARN puede ser dirigida por sus propios promotores correspondientes. En algunas formas de realización, la expresión del ARN guía puede ser impulsada por el mismo promotor que impulsa la expresión del agente de unión al ADN guiado por ARN. En algunas formas de realización, el ARN guía y el ORF que codifica el agente de unión al ADN guiado por ARN pueden estar contenidos dentro de una sola transcripción. Por ejemplo, el ARN guía puede estar dentro de una región no traducida (UTR) de la transcripción del agente de unión al ADN guiado por ARN. En algunas formas de realización, el ARN guía puede estar dentro de la UTR 5’ de la transcripción del agente de unión al ADN guiado por ARN. En otras formas de realización, el ARN guía puede estar dentro de la UTR 3’ de la transcripción del agente de unión al ADN guiado por ARN. En algunas formas de realización, la vida media intracelular del transcrito del agente de unión al ADN guiado por ARN puede reducirse conteniendo el ARN guía dentro de su UTR 3’ y acortando así la longitud de su UTR 3'. En formas de realización adicionales, el ARN guía puede estar dentro de un intrón de la transcripción del agente de unión al ADN guiado por ARN. En algunas formas de realización, se pueden agregar sitios de empalme adecuados en el intrón dentro del cual se ubica el ARN guía de tal manera que el ARN guía se empalma adecuadamente fuera de la transcripción. En algunas formas de realización, la expresión del agente de unión a ADN guiado por ARN y el ARN guía en la proximidad cercana en el mismo vector puede facilitar una formación más eficiente de un complejo de ribonucleoproteína del agente de unión a ADN guiado por ARN con el ARN guía.

En algunas formas de realización, se proporciona una formulación farmacéutica que comprende un ARNm de acuerdo con la descripción. En algunas formas de realización, se proporciona una formulación farmacéutica que comprende al menos un lípido, por ejemplo, un LNP que comprende un ARNm de

acuerdo con la divulgación. Se puede usar cualquier LNP adecuado para administrar ARN, como los descritos anteriormente; ejemplos de LNP adicionales se describen en PCT/US2017/024973, presentada el 30 de marzo de 3017. Una formulación farmacéutica puede comprender además un vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, agua o un tampón. Una formulación farmacéutica puede comprender además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como un estabilizante, conservante, agente de carga o similares. Una formulación farmacéutica puede comprender además una o más sales farmacéuticamente aceptables, tales como cloruro de sodio. En algunas formas de realización, la formulación farmacéutica está formulada para administración intravenosa. En algunas formas de realización, la formulación farmacéutica se formula para administrarse en la circulación hepática.

Determinación de la eficacia de ARNm

En algunas formas de realización, la eficacia de un ARNm se determina cuando se expresa junto con otros componentes de un RNP, por ejemplo, al menos un gARN, tal como un GRNA dirigido a TTR.

Un agente de unión a ADN guiado por ARN con actividad de escisión puede conducir a roturas bicatenarias en el ADN. La unión de extremos no homólogos (NHEJ) es un proceso mediante el cual las roturas de doble cadena (DSB) en el ADN se reparan mediante la religación de los extremos de ruptura, lo que puede producir errores en la forma de mutaciones de inserción/eliminación (indel). Los extremos de ADN de un DSB se someten con frecuencia a procesamiento enzimático, lo que resulta en la adición o eliminación de nucleótidos en una o ambas cadenas antes de volver a unir los extremos. Estas adiciones o eliminaciones antes de volver a unirse dan como resultado la presencia de mutaciones de inserción o eliminación (indel) en la secuencia de

ADN en el sitio de la reparación NHEJ. Muchas mutaciones debidas a los indeles alteran el marco de lectura o introducen codones de parada prematuros y, por lo tanto, producen una proteína no funcional.

En algunas formas de realización, la eficacia de un ARNm que codifica una nucleasa se determina basándose en modelos in vitro. En algunas formas de realización, el modelo in vitro es células HEK293. En algunas formas de realización, el modelo in vitro son células de hepatocarcinoma humano HUH7. En algunas formas de realización, el modelo in vitro es hepatocitos primarios, tales como hepatocitos primarios humanos o de ratón.

En algunas formas de realización, la eficacia de un ARN se mide mediante la edición porcentual de TTR. Los procedimientos de ejemplo para determinar el porcentaje de edición se dan en los ejemplos a continuación. En algunas formas de realización, el porcentaje de edición de TTR se compara con el porcentaje de edición obtenido cuando el ARNm comprende un ORF de la SEQ ID NO: 5 con uridina no modificada y todo lo demás es igual.

En algunas formas de realización, la eficacia de un ARNm se determina utilizando la concentración sérica de TTR en un ratón después de la administración de un LNP que comprende el ARNm y una ARNt que se dirige a la TTR, por ejemplo, la SEQ ID NO: 42. En algunas formas de realización, la eficacia de un ARNm se determina utilizando la concentración sérica de TTR en una rata después de la administración de un LNP que comprende el ARNm y un ARNg dirigido a la TTR, por ejemplo, SEQ ID NO: 69. La concentración sérica de TTR puede expresarse en términos absolutos o en % de reducción con respecto a un control de tratamiento simulado. En algunas formas de realización, la eficacia de un ARNm se determina utilizando la edición porcentual en el hígado en un ratón después de la administración de un LNP que comprende el ARNm y una ARNT dirigida a GTR, por ejemplo, la SEQ ID NO: 42. En algunas formas de realización,

una cantidad efectiva es capaz de lograr al menos un 50% de edición o un 50% de eliminación de la TTR sérica. Las cantidades efectivas de ejemplo están en el rango de 0,1 a 10 mg/kg (mpk), por ejemplo, de 0,1 a 0,3 mpk, de 0,3 a 0,5 mpk, de 0,5 a 1 mpk, de 1 a 2 mpk, de 2 a 3 mpk, de 3 a 5 mpk, 5 a 10 mpk, o 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 1, 2, 3, 5 ó 10 mpk.

En algunas formas de realización, la detección de eventos de edición de genes, como la formación de inserciones/deleciones ("indel") y los eventos de reparación dirigida por homología (HDR) en el ADN objetivo, utiliza la amplificación lineal con un cebador marcado y el aislamiento de los productos de amplificación etiquetados (en lo sucesivo denominado aquí "LAM–PCR" o "Método de Amplificación Lineal (LA)").

En algunas formas de realización, el método comprende aislar ADN celular de una célula que se ha inducido a tener una rotura de doble cadena (DSB) y, opcionalmente, que se ha provisto de una plantilla HDR para reparar la DSB; realizar al menos un ciclo de amplificación lineal del ADN con un cebador marcado; aislar los productos de amplificación lineal que comprenden la etiqueta, descartando así cualquier producto de amplificación que se amplificó con un cebador no etiquetado; opcionalmente ampliando aún más los productos aislados; y analizar los productos de amplificación lineal, o los productos amplificados adicionales, para determinar la presencia o ausencia de un evento de edición como, por ejemplo, una ruptura de doble cadena, una inserción, una eliminación o una secuencia de plantilla HDR en el ADN objetivo. En algunos casos, el evento de edición puede ser cuantificado. La cuantificación y similares, como se usan en este documento (incluso en el contexto de eventos de edición HDR y no HDR como los indeles) incluyen la detección de la frecuencia y/o el tipo (s) de edición de eventos en una población.

En algunas formas de realización, solo se lleva a cabo un ciclo de amplificación lineal.

En algunos casos, el cebador etiquetado comprende un código de barras molecular. En algunas formas de realización, el cebador etiquetado comprende un código de barras molecular, y solo se lleva a cabo un ciclo de amplificación lineal.

En algunas formas de realización, la etapa de análisis comprende la secuenciación de los productos amplificados lineales o los productos amplificados adicionales. La secuenciación puede comprender cualquier método conocido por los expertos en la técnica, incluida la secuenciación de la próxima generación, y la clonación de los productos de amplificación lineal o productos amplificados adicionales en un plásmido y la secuenciación del plásmido o una porción del plásmido. En otros aspectos, la etapa de análisis comprende realizar una PCR digital (dPCR) o una PCR digital de gotas (ddPCR) en los productos amplificados lineales o en los productos amplificados adicionales. En otros casos, la etapa de análisis comprende poner en contacto los productos amplificados lineales o los productos amplificados adicionales con una sonda de ácido nucleico diseñada para identificar el ADN que comprende la secuencia de la plantilla de HDR y detectar las sondas que se han unido al producto o productos amplificados lineales o al producto amplificado adicional. (s). En algunas formas de realización, el método comprende además determinar la ubicación de la plantilla HDR en el ADN objetivo.

En determinadas formas de realización, el método comprende además determinar la secuencia de un sitio de inserción en el ADN objetivo, en donde el sitio de inserción es la ubicación donde la plantilla HDR se incorpora en el ADN objetivo, y en donde el sitio de inserción puede incluir algún ADN objetivo secuencia y alguna secuencia de plantilla HDR.

En algunas formas de realización, la amplificación lineal del ADN objetivo con un cebador marcado se realiza durante 1–50 ciclos, 1–60 ciclos, 1–70 ciclos, 1–80 ciclos, 1–90 ciclos, o 1–100 ciclos

En algunas formas de realización, la amplificación lineal del ADN diana con un cebador etiquetado comprende una etapa de desnaturalización para separar los dúplex de ADN, una etapa de recocido para permitir la unión del cebador y una etapa de alargamiento. En algunas formas de realización, la amplificación lineal es isotérmica (no requiere un cambio de temperatura). En algunas formas de realización, la amplificación lineal isotérmica es una amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), una amplificación por desplazamiento de cadena (SDA), una amplificación dependiente de helicasa o una reacción de amplificación de enzima de corte.

En algunas formas de realización, el cebador etiquetado se acopla al ADN diana al menos 50, al menos 60, al menos 70, al menos 80, al menos 90, al menos 100, al menos 110, al menos 120, al menos 130, al menos 140, al menos 150, al menos 160, al menos 170, al menos 180, al menos 190, al menos 200, al menos 210, al menos 220, al menos 230, al menos 240, al menos 250, a al menos 260, al menos 270, al menos 280, al menos 290, al menos 300, al menos 1000, al menos 5000 o al menos 10000 nucleótidos fuera de la ubicación de evento de edición esperada, por ejemplo, la inserción, eliminación o sitio de inserción de plantilla

En algunas formas de realización, el cebador etiquetado comprende un código de barras molecular. En algunas formas de realización, el código de barras molecular comprende una secuencia que no es complementaria del ADN objetivo. En algunas formas de realización, el código de barras molecular comprende 6, 8, 10 ó 12 nucleótidos.

En algunas formas de realización, la etiqueta en el cebador es biotina, estreptavidina, digoxigenina, una secuencia de ADN o isotiocianato de fluoresceína (FITC).

En algunas formas de realización, los productos de amplificación lineal se aíslan utilizando un reactivo de captura específico para la etiqueta en el cebador. En algunas formas de realización, el reactivo de captura está en una cuenta, soporte sólido, matriz o columna. En algunas formas de realización, la etapa de aislamiento comprende poner en contacto el o los productos de amplificación lineales con un reactivo de captura específico para la etiqueta en el cebador. En algunas formas de realización, el reactivo de captura es biotina, estreptavidina, digoxigenina, una secuencia de ADN o isotiocianato de fluoresceína (FITC).

En algunas formas de realización, la etiqueta es biotina y el reactivo de captura es estreptavidina. En algunas formas de realización, la etiqueta es estreptavidina y el reactivo de captura es biotina. En algunas formas de realización, la etiqueta está en el extremo 5’ del cebador, el término 3' del cebador, o interna al cebador. En algunas formas de realización, la etiqueta y/o el reactivo de captura se eliminan después de la etapa de aislamiento. En algunas formas de realización, la etiqueta y/o el reactivo de captura no se eliminan, y los pasos adicionales de amplificación y análisis se realizan en presencia de la etiqueta y/o captura.

En algunas formas de realización, la amplificación adicional es no lineal. En algunas formas de realización, la amplificación adicional es PCR digital, qPCR o RT–PCR. En algunas formas de realización, la secuenciación es la secuenciación de próxima generación (NGS).

En algunas formas de realización, el ADN diana es genómico o mitocondrial. En algunas formas de realización, el ADN objetivo es el ADN genómico de una célula procariótica o eucariota. En algunas formas de

realización, el ADN diana es mamífero. El ADN objetivo puede ser de una célula que no se divide o de una célula que se divide. En algunas formas de realización, el ADN diana puede ser de una célula primaria. En algunas formas de realización, el ADN diana es de una célula replicante.

En algunos casos, el ADN celular se corta antes de la amplificación lineal. En algunas formas de realización, el ADN cortado tiene un tamaño promedio entre 0,5 kb y 20 kb. En algunos casos, el ADN celular se corta a un tamaño promedio de 0,5, 0,75, 1,0, 1,25, 1,5, 1,75, 2,0, 2,25, 2,5, 2,75, 3,0, 3,25, 3,5, 3,75, 4,0, 4,25, 4,5, 4,75, 5,0, 5,25, 5,5, 5,75, 6,0, 6,25, 6,5, 6,75, 7,0, 7,25, 7,5, 7,75, 8,0, 8,25, 8,5, 8,75, 9,0, 9,25, 9,5, 9,75, 10,0, 10,25, 10,5, 10,75, 11,0, 11,25, 11,5, 11,75, 12,0, 12,25, 12,5, 12,75, 13,0, 13,25, 13,5, 13,75, 14,0, 14,25, 14,5, 14,75, 15,0, 15,25, 15,5, 15,75, 16,0, 16,25, 16,5, 16,75, 17,2, 17,25, 17,5, 17,75, 18,0, 18,25, 18,5, 18,75, 19,0, 19,25, 19,5, 19,75 o 20,0 kb. En algunos casos, el ADN celular se corta a un tamaño promedio de alrededor de 1,5 kb.

Usos, métodos y tratamientos de ejemplo

En algunas formas de realización, un ARNm, LNP, o una composición farmacéutica es para uso en la edición del genoma, por ejemplo, la edición de un gen diana. En algunas formas de realización, un ARNm, LNP o composición farmacéutica se usa para modificar un gen diana, por ejemplo, alterar su secuencia o estado epigenético. En algunas formas de realización, un ARNm, LNP o composición farmacéutica se usa para inducir una rotura de doble cadena (DSB) dentro de un gen diana. En algunas formas de realización, un ARNm, LNP o composición farmacéutica se usa para inducir un indel dentro de un gen diana. En algunas formas de realización, el uso de un ARNm, LNP o composición farmacéutica descrito en el presente documento se proporciona para la preparación de un medicamento para la edición del genoma, por ejemplo, la

edición de un gen diana. En algunas formas de realización, el uso de un ARNm, LNP o composición farmacéutica descrito en el presente documento se proporciona para la preparación de un medicamento para modificar un gen diana, por ejemplo, alterando su secuencia o estado epigenético. En algunas formas de realización, el uso de un ARNm, LNP o composición farmacéutica descrito en el presente documento se proporciona para la preparación de un medicamento para inducir una rotura de doble cadena (DSB) dentro de un gen diana. En algunas formas de realización, el uso de un ARNm, LNP o composición farmacéutica descrito en el presente documento se proporciona para la preparación de un medicamento para inducir un indel dentro de un gen diana. En algunas formas de realización, el gen diana está en un sujeto, tal como un mamífero, tal como un humano. En algunas formas de realización, el gen diana está en un órgano, tal como un hígado, tal como un hígado de mamífero, tal como un hígado humano. En algunas formas de realización, el gen diana está en una célula hepática, tal como una célula hepática de mamífero, tal como una célula hepática humana. En algunas formas de realización, el gen diana está en un hepatocito, tal como un hepatocito de mamífero, tal como un hepatocito humano. En algunas formas de realización, la célula hepática o el hepatocito está in situ. En algunas formas de realización, la célula hepática o el hepatocito se aíslan, por ejemplo, en un cultivo, tal como en un cultivo primario. También se proporcionan métodos correspondientes a los usos descritos en el presente documento, que comprenden administrar el ARNm, LNP o la composición farmacéutica descrita en este documento a un sujeto o poner en contacto una célula tal como los descritos anteriormente con el ARNm, LNP o la composición farmacéutica descrita en el presente documento.

En algunas formas de realización, un ARNm, LNP o composición farmacéutica es para uso en terapia o en el tratamiento de una enfermedad, por

ejemplo, amiloidosis asociada con TTR (ATTR). En algunas formas de realización, se proporciona el uso de un ARNm descrito en el presente documento (por ejemplo, en una composición proporcionada en este documento) para la preparación de un medicamento, por ejemplo, para tratar a un sujeto que tiene amiloidosis asociada con TTR (ATTR).

En algunas formas de realización, un ARNm, LNP o una composición farmacéutica se administra por vía intravenosa para cualquiera de los usos descritos anteriormente en relación con organismos, órganos o células in situ. En algunas formas de realización, un ARNm, LNP o una composición farmacéutica se administra a una dosis en el rango de 0,01 a 10 mg/kg (mpk), por ejemplo, 0,01 a 0,1 mpk, 0,1 a 0,3 mpk, 0,3 a 0,5 mpk, 0,5 a 1 mpk, 1 a 2 mpk, 2 a 3 mpk, 3 a 5 mpk, 5 a 10 mpk, o 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 1, 2, 3, 5 ó 10 mpk.

En cualquiera de las formas de realización anteriores que implican a un sujeto, el sujeto puede ser un mamífero. En cualquiera de las formas de realización anteriores que involucran a un sujeto, el sujeto puede ser humano. En cualquiera de las formas de realización anteriores que implican a un sujeto, el sujeto puede ser una vaca, un cerdo, un mono, una oveja, un perro, un gato, un pez o un ave.

En algunas formas de realización, un ARNm, LNP o una composición farmacéutica descrita en este documento se administra por vía intravenosa o para administración intravenosa. En algunas formas de realización, los ARN guía, las composiciones y las formulaciones se administran en la circulación hepática o para la administración en la circulación hepática.

En algunas formas de realización, una única administración de un ARNm, LNP, o una composición farmacéutica descrita en el presente documento es suficiente para eliminar la expresión del producto génico objetivo. En algunas formas de realización, una única administración de un ARNm, LNP o composición

farmacéutica descrita en el presente documento es suficiente para eliminar la expresión del producto génico objetivo. En otras formas de realización, más de una administración de un ARNm, LNP o composición farmacéutica descrita en el presente documento puede ser beneficiosa para maximizar la edición, modificación, formación de indel, formación de DSB o similares mediante efectos acumulativos.

En algunas formas de realización, la eficacia del tratamiento con un ARNm, LNP o una composición farmacéutica descrita en el presente documento se observa en 1 año, 2 años, 3 años, 4 años, 5 años o 10 años después del parto.

En algunas formas de realización, el tratamiento retarda o detiene la progresión de la enfermedad.

En algunas formas de realización, el tratamiento da como resultado una mejora, estabilización o ralentización del cambio en la función del órgano o síntomas de enfermedad de un órgano, tal como el hígado.

En algunas formas de realización, la eficacia del tratamiento se mide por el aumento del tiempo de supervivencia del sujeto.

Moléculas de ADN, vectores, constructos de expresión, células huésped y métodos de producción de ejemplo

En determinadas formas de realización, la divulgación proporciona una molécula de ADN que comprende una secuencia que codifica cualquiera de los ARNm que codifican un agente de unión a ADN guiado por ARN descrito en el presente documento. En algunas formas de realización, además de secuencias de agentes de unión a ADN guiadas por ARN, la molécula de ADN comprende además ácidos nucleicos que no codifican agentes de unión a ADN guiados por ARN. Los ácidos nucleicos que no codifican los agentes de unión a ADN guiados

por ARN incluyen, entre otros, promotores, potenciadores, secuencias reguladoras y ácidos nucleicos que codifican un ARN guía.

En algunas formas de realización, la molécula de ADN comprende además una secuencia de nucleótidos que codifica un ARNcr, un ARNr, o un ARNcr y un ARNr. En algunas formas de realización, la secuencia de nucleótidos que codifica el crARN, trARN o crARN y trARN comprende o consiste en una secuencia guía flanqueada por la totalidad o una porción de una secuencia de repetición de un sistema CRISPR/Cas de origen natural. El ácido nucleico que comprende o que consiste en el crARN, trARN, o crARN y trARN puede comprender además una secuencia de vector en la que la secuencia del vector comprende o consiste en ácidos nucleicos que no se encuentran naturalmente junto con el crARN, trARN o crARN y trARN. En algunas formas de realización, el crARN y el trARN están codificados por ácidos nucleicos no contiguos dentro de un vector. En otras formas de realización, el crARN y el trARN pueden estar codificados por un ácido nucleico contiguo. En algunas formas de realización, el crARN y el trARN están codificados por cadenas opuestas de un solo ácido nucleico. En otras formas de realización, el crARN y el trARN están codificados por la misma cadena de un solo ácido nucleico.

En algunas formas de realización, la molécula de ADN comprende además un promotor unido operativamente a la secuencia que codifica cualquiera de los ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN descrito en el presente documento. En algunas formas de realización, la molécula de ADN es un constructo de expresión adecuado para la expresión en una célula de mamífero, por ejemplo, una célula humana o una célula de ratón, como un hepatocito humano o un hepatocito de roedor (por ejemplo, un ratón). En algunas formas de realización, la molécula de ADN es una construcción de expresión adecuada para la expresión en una célula de un órgano de mamífero, por ejemplo, un hígado

humano o un hígado de roedor (por ejemplo, un ratón). En algunas formas de realización, la molécula de ADN es un plásmido o un episoma. En algunas formas de realización, la molécula de ADN está contenida en una célula huésped, como una bacteria o una célula eucariota cultivada. Las bacterias de ejemplo incluyen proteobacterias tales como E. coli. Las células eucariotas cultivadas a modo de ejemplo incluyen hepatocitos primarios, incluyendo hepatocitos de roedor (por ejemplo, ratón) o de origen humano; líneas celulares de hepatocitos, incluidos hepatocitos de roedor (por ejemplo, ratón) o de origen humano; líneas celulares humanas; líneas celulares de roedor (por ejemplo, ratón); Células CHO; hongos microbianos, tales como levaduras en fisión o en ciernes, por ejemplo, Saccharomyces, tales como S. cerevisiae; y células de insectos.

En algunas formas de realización, se proporciona un método para producir un ARNm descrito en el presente documento. En algunas formas de realización, tal método comprende poner en contacto una molécula de ADN descrita en el presente documento con una ARN polimerasa en condiciones permisivas para la transcripción. En algunas formas de realización, el contacto se realiza in vitro, por ejemplo, en un sistema libre de células. En algunas formas de realización, la ARN polimerasa es una ARN polimerasa de origen bacteriófago, tal como la ARN polimerasa T7. En algunas formas de realización, se proporcionan NTP que incluyen al menos un nucleótido modificado tal como se discutió anteriormente. En algunas formas de realización, los NTP incluyen al menos un nucleótido modificado como se discutió anteriormente y no comprenden UTP.

En algunas formas de realización, un ARNm descrito en este documento solo o junto con uno o más ARN guía, puede estar comprendido dentro de o entregado por un sistema de vector de uno o más vectores. En algunas formas de realización, uno o más de los vectores, o todos los vectores, pueden ser vectores de ADN. En algunas formas de realización, uno o más de los vectores, o todos los

vectores, pueden ser vectores de ARN. En algunas formas de realización, uno o más de los vectores, o todos los vectores, pueden ser circulares. En otras formas de realización, uno o más de los vectores, o todos los vectores, pueden ser lineales. En algunas formas de realización, uno o más de los vectores, o todos los vectores, pueden estar encerrados en una nanopartícula lipídica, liposoma, nanopartícula no lipídica o cápside viral. Los vectores de ejemplo no limitantes incluyen plásmidos, fagémidos, cósmidos, cromosomas artificiales, minicromosomas, transposones, vectores víricos y vectores de expresión.

Los ejemplos de vectores virales no limitantes incluyen vectores de virus adenoasociados (AAV), vectores de lentivirus, vectores de adenovirus, vectores adenovirales dependientes de ayuda (HDAd), vectores de virus del herpes simple (HSV–1), vectores de bacteriófagos T4, vectores de baculovirus y Vectores retrovirus. En algunas formas de realización, el vector viral puede ser un vector AAV. En otras formas de realización, el vector viral puede ser un vector lentivirus. En algunas formas de realización, el lentivirus puede ser no integrador. En algunas formas de realización, el vector viral puede ser un vector de adenovirus. En algunas formas de realización, el adenovirus puede ser una alta capacidad de clonación o adenovirus "gutless", donde todas las regiones virales codificantes, aparte de las repeticiones terminales invertidas (ITR) 5’y 3' y la señal de empaquetamiento ('I') se eliminan de El virus para aumentar su capacidad de envasado. En otras formas de realización más, el vector viral puede ser un vector HSV–1. En algunas formas de realización, el vector basado en HSV–1 es dependiente del ayudante, y en otras formas de realización es independiente del ayudante. Por ejemplo, un vector de amplicón que retiene solo la secuencia de empaquetamiento requiere un virus auxiliar con componentes estructurales para el empaquetamiento, mientras que un vector HSV–1 eliminado de 30 kb que elimina funciones virales no esenciales no requiere un virus auxiliar. En formas de

realización adicionales, el vector viral puede ser el bacteriófago T4. En algunas formas de realización, el bacteriófago T4 puede ser capaz de empaquetar cualquier molécula de ADN o ARN lineal o circular cuando se vacía la cabeza del virus. En formas de realización adicionales, el vector viral puede ser un vector de baculovirus. En otras formas de realización adicionales, el vector viral puede ser un vector de retrovirus. En formas de realización que usan vectores de AAV o lentivirales, que tienen una capacidad de clonación más pequeña, puede ser necesario usar más de un vector para administrar todos los componentes de un sistema de vectores como se describe en el presente documento. Por ejemplo, un vector AAV puede contener secuencias que codifican una proteína Cas, mientras que un segundo vector AAV puede contener una o más secuencias guía.

Los vectores virales de ejemplo no limitativos incluyen vectores de virus adenoasociados (AAV), vectores de lentivirus, vectores de adenovirus, vectores adenovirales dependientes de ayuda (HDAd), vectores de virus del herpes simple (HSV–1), vectores de bacteriófagos T4, vectores de baculovirus y virus de retrovirus. En algunas formas de realización, el vector viral puede ser un vector AAV. En otras formas de realización, el vector viral puede ser un vector lentivirus. En algunas formas de realización, el lentivirus puede ser no integrador. En algunas formas de realización, el vector viral puede ser un vector de adenovirus. En algunas formas de realización, el adenovirus puede ser una alta capacidad de clonación o adenovirus "gutless", donde todas las regiones virales codificantes, aparte de las repeticiones terminales invertidas (ITR) 5’y 3' y la señal de empaquetamiento ('I') se eliminan de El virus para aumentar su capacidad de envasado. En otras formas de realización más, el vector viral puede ser un vector HSV–1. En algunas formas de realización, el vector basado en HSV–1 es dependiente del ayudante, y en otras formas de realización es independiente del ayudante. Por ejemplo, un vector de amplicón que retiene solo la secuencia de

empaquetamiento requiere un virus auxiliar con componentes estructurales para el empaquetamiento, mientras que un vector HSV–1 eliminado de 30 kb que elimina funciones virales no esenciales no requiere un virus auxiliar. En formas de realización adicionales, el vector viral puede ser el bacteriófago T4. En algunas formas de realización, el bacteriófago T4 puede ser capaz de empaquetar cualquier molécula de ADN o ARN lineal o circular cuando se vacía la cabeza del virus. En formas de realización adicionales, el vector viral puede ser un vector de baculovirus. En otras formas de realización adicionales, el vector viral puede ser un vector de retrovirus. En formas de realización que usan vectores de AAV o lentivirales, que tienen una capacidad de clonación más pequeña, puede ser necesario usar más de un vector para administrar todos los componentes de un sistema de vectores como se describe en el presente documento. Por ejemplo, un vector AAV puede contener secuencias que codifican una proteína Cas, mientras que un segundo vector AAV puede contener una o más secuencias guía.

En algunas formas de realización, el vector puede ser capaz de dirigir la expresión de una o más secuencias de codificación, tales como la secuencia de codificación de un ARNm descrito en el presente documento, en una célula. En algunas formas de realización, la célula puede ser una célula procariota, tal como, por ejemplo, una célula bacteriana. En algunas formas de realización, la célula puede ser una célula eucariota, tal como, por ejemplo, una célula de levadura, planta, insecto o mamífero. En algunas formas de realización, la célula eucariota puede ser una célula de mamífero. En algunas formas de realización, la célula eucariota puede ser una célula de roedor. En algunas formas de realización, la célula eucariota puede ser una célula humana. Los promotores adecuados para dirigir la expresión en diferentes tipos de células son conocidos en la técnica. En algunas formas de realización, el promotor puede ser de tipo salvaje. En otras formas de realización, el promotor puede modificarse para una expresión más

eficiente o eficaz. En otras formas de realización más, el promotor puede estar truncado pero retener su función. Por ejemplo, el promotor puede tener un tamaño normal o un tamaño reducido que sea adecuado para el empaquetamiento adecuado del vector en un virus.

En algunas formas de realización, el sistema de vector puede comprender una copia de una secuencia de nucleótidos que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN. En otras formas de realización, el sistema de vector puede comprender más de una copia de una secuencia de nucleótidos que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN. En algunas formas de realización, la secuencia de nucleótidos que codifica el agente de unión a ADN guiado por ARN puede unirse operativamente a al menos una secuencia de control transcripcional o de traducción. En algunas formas de realización, la secuencia de nucleótidos que codifica la nucleasa puede unirse operativamente a al menos un promotor.

En algunas formas de realización, el promotor puede ser constitutivo, inducible o específico de tejido. En algunas formas de realización, el promotor puede ser un promotor constitutivo. Los promotores constitutivos de ejemplo no limitativos incluyen el promotor temprano inmediato del citomegalovirus (CMV), el promotor del virus simio (SV40), el promotor del adenovirus mayor tardío (MLP), el promotor del virus del sarcoma de Rous (RSV), el promotor del virus del tumor mamario del ratón (MMTV), el promotor de la fosfoglicerato quinasa (PGK), promotor, factor de alargamiento alfa (EF1a), promotores de ubiquitina, promotores de actina, promotores de tubulina, promotores de inmunoglobulina, un fragmento funcional del mismo, o una combinación de cualquiera de los anteriores. En algunas formas de realización, el promotor puede ser un promotor de CMV. En algunas formas de realización, el promotor puede ser un promotor de CMV truncado. En otras formas de realización, el promotor puede ser un promotor EF1a. En algunas formas de realización, el promotor puede ser un promotor

inducible. Promotores inducibles de ejemplo no limitativos incluyen aquellos inducibles por choque térmico, luz, productos químicos, péptidos, metales, esteroides, antibióticos o alcohol. En algunas formas de realización, el promotor inducible puede ser uno que tenga un bajo nivel de expresión basal (no inducido), tal como, por ejemplo, el promotor Tet–On® (Clontech).

En algunas formas de realización, el promotor puede ser un promotor específico de tejido, por ejemplo, un promotor específico para la expresión en el hígado.

El vector puede comprender además una secuencia de nucleótidos que codifica al menos un ARN guía. En algunas formas de realización, el vector comprende una copia del ARN guía. En otras formas de realización, el vector comprende más de una copia del ARN guía. En formas de realización con más de un ARN guía, los ARN guía pueden ser no idénticos, de manera que se dirigen a diferentes secuencias diana, o pueden ser idénticos, ya que se dirigen a la misma secuencia diana. En algunas formas de realización donde los vectores comprenden más de un ARN guía, cada ARN guía puede tener otras propiedades diferentes, como actividad o estabilidad dentro de un complejo de ribonucleoproteína con el agente de unión al ADN guiado por ARN. En algunas formas de realización, la secuencia de nucleótidos que codifica el ARN guía puede unirse operativamente a al menos una secuencia de control transcripcional o de traducción, tal como un promotor, una UTR 3’ o una UTR 5'. En una forma de realización, el promotor puede ser un promotor de ARNt, por ejemplo, tRNALys3, o una quimera de ARNt. Ver Mefferd et al., ARN. 2015 21: 1683–9; Scherer et al., Nucleic Acids Res. 2007 35: 2620–2628. En algunas formas de realización, el promotor puede ser reconocido por la ARN polimerasa III (Pol III). Ejemplos no limitantes de promotores Pol III incluyen promotores U6 y H1. En algunas formas de realización, la secuencia de nucleótidos que codifica el ARN guía puede unirse

operativamente a un ratón o promotor U6 humano. En otras formas de realización, la secuencia de nucleótidos que codifica el ARN guía puede estar unida operativamente a un promotor H1 de ratón o humano. En formas de realización con más de un ARN guía, los promotores utilizados para dirigir la expresión pueden ser iguales o diferentes. En algunas formas de realización, el nucleótido que codifica el ARNcr del ARN guía y el nucleótido que codifica el ARNrc del ARN guía puede proporcionarse en el mismo vector. En algunas formas de realización, el nucleótido que codifica el crARN y el nucleótido que codifica el trARN pueden ser controlados por el mismo promotor. En algunas formas de realización, el crARN y el trARN pueden transcribirse en una sola transcripción. Por ejemplo, el crARN y el trARN pueden procesarse a partir de la única transcripción para formar un ARN guía de molécula doble. Alternativamente, el ARNcr y el ARNrr pueden transcribirse en un ARN guía de molécula única. En otras formas de realización, el crARN y el trARN pueden ser dirigidos por sus promotores correspondientes en el mismo vector. En otras formas de realización más, el crARN y el trARN pueden estar codificados por diferentes vectores.

En algunas formas de realización, las composiciones comprenden un sistema de vectores, en el que el sistema comprende más de un vector. En algunas formas de realización, el sistema de vectores puede comprender un solo vector. En otras formas de realización, el sistema de vectores puede comprender dos vectores. En formas de realización adicionales, el sistema de vectores puede comprender tres vectores. Cuando se utilizan diferentes ARN guía para la multiplexación, o cuando se usan copias múltiples del ARN guía, el sistema de vectores puede comprender más de tres vectores.

En algunas formas de realización, el sistema de vector puede comprender promotores inducibles para iniciar la expresión solo después de que se entrega a una célula diana. Promotores inducibles de ejemplo no limitativos incluyen

aquellos inducibles por choque térmico, luz, productos químicos, péptidos, metales, esteroides, antibióticos o alcohol. En algunas formas de realización, el promotor inducible puede ser uno que tenga un bajo nivel de expresión basal (no inducido), tal como, por ejemplo, el promotor Tet–On® (Clontech).

En formas de realización adicionales, el sistema de vector puede comprender promotores específicos de tejido para comenzar la expresión solo después de que se administra en un tejido específico.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar ciertas formas de realización descriptas y no se deben interpretar como limitantes del alcance de esta descripción de ninguna manera.

Reactivos y métodos generales. A menos que se indique lo contrario, el ARNm se sintetizó por transcripción in vitro (IVT) usando un molde de ADN plasmídico linealizado y ARN polimerasa T7. La transcripción se realizó generalmente a partir de los constructos que comprenden un Promotor T7, una secuencia del transcripto descripta en la presente como la SEQ ID NO: 43 (que comprende la SEQ ID NO: 1 y codifica el ARN ORF de la SEQ ID NO: 4) o la SEQ ID NO: 48 (que comprende la SEQ ID NO: 2 y codifica el ARN ORF de la SEQ ID NO: 5), y una cola poli–A (SEQ ID NO: 63) codificada en el plásmido. Los experimentos en los que se probaron múltiples UTR utilizaron constructos similares, excepto que se usaron secuencias de transcriptos tales como las SEQ ID NO: 58 y 59. El ADN plasmídico que contiene un promotor T7 y una región poli (A/T) de 100 nt se linealizó mediante la incubación a 37 °C durante 2 horas con XbaI en las siguientes condiciones:200 ng/µL de plásmido, 2 U/µL de XbaI (NEB), y 1x tampón de reacción. El XbaI se inactivó mediante el calentamiento de la reacción a 65 °C durante 20 min. El plásmido linealizado se purificó a partir de

enzimas y sales tampón usando una columna maxi spin de sílice (Epoch Life Sciences) y se analizó mediante un gel de agarosa para confirmar la linealización. La reacción de IVT para generar ARNm modificado con Cas9 se incubó a 37 °C durante 4 horas en las siguientes condiciones:50 ng/µL de plásmido linealizado; 2 mM de GTP, ATP, CTP y UTP o, cuando se indique, un trifosfato de nucleótido modificado (por ejemplo, N1–metil pseudo–UTP) en lugar de CTP o UTP (Trilink); 10 mM de ARCA (Trilink); 5 U/µL de ARN polimerasa T7 (NEB); 1 U/µL (NEB); 1 U/µL inhibidor de la ARNasa murina (NEB); 0,004 U/µL de pirofosfatasa inorgánica de E. coli (NEB); y 1x tampón de reacción. Después de 4 horas de incubación, se añadió TURBO DNasa (ThermoFisher) a una concentración final de 0,01 U/µL, y la reacción se incubó durante 30 minutos adicionales para eliminar el molde de ADN. El ARNm de Cas9 se purificó a partir de enzimas y nucleótidos usando un kit de limpieza de transcripción MegaClear de acuerdo con el protocolo del fabricante (ThermoFisher). Alternativamente, el ARNm se purificó mediante un protocolo de precipitación, que en algunos casos fue seguido por una purificación basada en HPLC. Brevemente, después de la digestión con ADNasa, el ARNm se precipitó mediante la adición de 0,21 x vol de una solución de LiCl 7,5 M y se mezcló, y el ARNm precipitado se sedimentó por centrifugación. Una vez que se eliminó el sobrenadante, el ARNm se reconstituyó en agua. El ARNm se precipitó de nuevo usando acetato de amonio y etanol. Se añadió acetato de amonio 5 M a la solución de ARNm para una concentración final de 2 M junto con un volumen 2x de EtOH 100%. La solución se mezcló y se incubó a –20 °C durante 15 min. El ARNm precipitado se sedimentó de nuevo por centrifugación, se eliminó el sobrenadante y se reconstituyó el ARNm en agua. Como etapa final, el ARNm se precipitó usando acetato de sodio y etanol. Se añadió volumen 1/10 de acetato de sodio 3 M (pH 5,5) a la solución junto con volumen 2x de EtOH 100%. La solución se mezcló y se incubó a –20 °C durante 15 min. El ARNm

precipitado se sedimentó de nuevo por centrifugación, se eliminó el sobrenadante, se lavó el sedimento con etanol frío 70% y se dejó secar al aire. El ARNm se reconstituyó en agua. Para el ARNm purificado por HPLC, después de la precipitación de Lic. y reconstitución, el ARNm se purificó por HPLC RP–IP (ver, por ejemplo, Kariko, et al. *Nucleic Acids Research*, 2011, Vol. 39, No. 21 e142). Las fracciones elegidas para la mezcla se combinaron y se desalinizaron mediante precipitación con acetato de sodio/etanol como se describió anteriormente.

Para todos los métodos, la concentración del transcripto se determinó mediante la medición de la absorbancia de la luz a 260 nm (Nanodrop), y el transcripto se analizó mediante electroforesis capilar por Bioanlayzer (Agilent). A menos que se indique lo contrario, se realizaron experimentos de edición in vivo con ratones hembra CD–1 y ratas Sprague–Dawley de Charles River Laboratories. A menos que se indique lo contrario, el análisis de los niveles séricos de TTR en ratones se realizó de la siguiente manera. Se recogió sangre y se aisló el suero como se indica.

Cuando se indica en el ejemplo aplicable, también se midió la inducción de citoquinas en los ratones tratados. Para este análisis, se recolectaron aproximadamente 50–100 µL de sangre mediante un corte en la vena de la cola para las mediciones de citoquinas en suero. La sangre se dejó coagular a temperatura ambiente durante aproximadamente 2 horas y luego se centrifugó a 1000 xg durante 10 minutos antes de recoger el suero. Un análisis multiplex de perlas magnéticas basado en Luminex (Affymetrix ProcartaPlus, número de catálogo Exp040–00000–801) que mide IL–6, TNF–alfa, IFN–alfa y MCP–1 se usó para el análisis de citoquinas en las muestras recolectadas. Los reactivos y estándares del kit se prepararon como se indica en el protocolo del fabricante. El suero de ratón se diluyó 4 veces usando el diluyente de muestra provisto y se

añadieron 50 µL a los pocillos que contienen 50 µL de las perlas magnéticas recubiertas con anticuerpo diluido. La placa se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente y luego se lavó. Se añadió anticuerpo de biotina diluida (50 µL) a las perlas y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Las perlas se lavaron de nuevo antes de añadir 50 µL de estreptavidina–PE diluida a cada pocillo, seguido de incubación durante 30 minutos. Las perlas se lavaron una vez más y luego se suspendieron en 100 µL de tampón de lavado y se leyeron en el instrumento Bio–Plex 200 (Bio–Rad). Los datos se analizaron usando el paquete de análisis Bioplex Manager ver,6,1 con concentraciones de citoquinas calculadas a partir de una curva estándar mediante un ajuste de curva logística de cinco parámetros.

Se usaron ATP, GTP, CTP y UTP sin modificar, a menos que se indique lo contrario. Todos los ARNm codificaron una señal de localización nuclear a menos que se indique lo contrario.

Las LNP se formaron mediante mezcla microfluídica de las soluciones de lípidos y ARN usando un instrumento de mesada de Precision Nanosystems NanoAssemblr™, de acuerdo con el protocolo del fabricante, o la mezcla de flujo cruzado, como se describe a continuación. A menos que se indique lo contrario, las LNP contenían 45% de lípido A, 9% de DSPC, 44% de colesterol y 2% de PEG2k–DMG y una relación N:P de 4,5.

Formulación de LNP – NanoAssemblr

En general, los componentes de nanopartículas lipídicas se disolvieron en etanol 100% con el componente lipídico de diversas relaciones molares. Las cargas de ARN se disolvieron en citrato 25 mM, NaCl 100 mM, pH 5,0, lo que da como resultado una concentración de carga de ARN de aproximadamente 0,45 mg/ml. Las LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato

de ARN (N:P) de aproximadamente 4,5 o aproximadamente 6, con la relación de ARNm a ARNg a 1:1 en peso.

Las LNP se formaron por mezcla microfluídica de las soluciones de lípidos y ARN usando un instrumento de mesada de Precision Nanosystems NanoAssemblr™, de acuerdo con el protocolo del fabricante. Se mantuvo una relación de 2:1 de solvente acuoso a orgánico durante la mezcla usando velocidades de flujo diferenciales. Después de mezclar, las LNP se recogieron, se diluyeron en agua (aproximadamente 1:1 v/v), se mantuvieron durante 1 hora a temperatura ambiente y se diluyeron más con agua (aproximadamente 1:1 v/v) antes del intercambio de tampón final. El intercambio de tampón final en Tris 50 mM, NaCl 45 mM, sacarosa 5% (p/v), pH 7,5 (TSS) se completó con columnas de desalinización PD–10 (GE). Si fuera necesario, las formulaciones se concentraron por centrifugación con filtros centrífugos Amicon de 100 kDa (Millipore). La mezcla resultante se filtró luego usando un filtro estéril de 0,2 µm. La LNP final se almacenó a –80 °C hasta su uso posterior.

Formulación de LNP – flujo cruzado

Para las LNP preparadas mediante la técnica de flujo cruzado, las LNP se formaron mediante la mezcla por chorro de presión del lípido en etanol con dos volúmenes de solución de ARN y un volumen de agua. El lípido en etanol se mezcla a través de una mezcla cruzada con los dos volúmenes de solución de ARN. Una cuarta corriente de agua se mezcla con la corriente de salida del cruzamiento a través de una te en línea. (Ver WO2016010840, Fig. 2). Las LNP se mantuvieron durante 1 hora a temperatura ambiente y se diluyeron más con agua (aproximadamente 1:1 v/v). Las LNP diluidas se concentraron mediante filtración de flujo tangencial en un cartucho de lámina plana (Sartorius, 100kD MWCO) y luego se intercambió con tampón mediante diafiltración en Tris 50 mM, NaCl 45 mM, sacarosa 5% (p/v), pH 7,5 (TSS). Alternativamente, el intercambio

de tampón final en TSS se completó con las columnas de desalinización PD–10 (GE). Si fuera necesario, las formulaciones se concentraron por centrifugación con filtros centrífugos Amicon de 100 kDa (Millipore). La mezcla resultante se filtró luego usando un filtro estéril de 0,2 µm. La NP final se almacenó a 4 °C o –80 °C hasta su uso posterior.

Analítica de formulación

La dispersión dinámica de la luz ("DLS") se utiliza para caracterizar el índice de polidispersidad ("pdi") y el tamaño de las LNP de la presente descripción. DLS mide la dispersión de la luz que resulta de someter una muestra a una fuente de luz. El PDI, según se determina a partir de las mediciones de DLS, representa la distribución del tamaño de partícula (alrededor del tamaño de partícula promedio) en una población, con una población perfectamente uniforme que tiene un PDI de cero. El tamaño de partícula promedio y la polidispersidad se miden por dispersión de luz dinámica (DLS) usando un instrumento Malvern Zetasizer DLS. Las muestras de LNP se diluyeron 30X en PBS antes de medir por DLS. El diámetro promedio Z, que es una medición basada en la intensidad del tamaño de partícula promedio, se informó junto con el diámetro promedio numérico y pdi. Un instrumento Malvern Zetasizer también se usa para medir el potencial zeta de la LNP. Las muestras se diluyen 1:17 (50 uL en 800 uL) en 0,1X PBS, pH 7,4 antes de la medición.

Se utiliza un ensayo basado en fluorescencia (Ribogreen®, ThermoFisher Scientific) para determinar la concentración de ARN total y ARN libre. La eficiencia de encapsulación se calcula como (ARN total – ARN libre)/ARN total. Las muestras de LNP se diluyen apropiadamente con 1x tampón TE que contiene 0,2% de Triton–X 100 para determinar el ARN total o 1x tampón TE para determinar el ARN libre. Las curvas estándar se preparan usando la solución de

ARN de partida utilizada para obtener las formulaciones y se diluyen en 1x tampón TE +/– 0,2% Triton–X 100. Luego se añade un colorante RiboGreen® diluido (según las instrucciones del fabricante) a cada uno de los estándares. y muestras y se dejó incubar durante aproximadamente 10 minutos a temperatura ambiente, en ausencia de luz. Se utiliza un lector de microplacas SpectraMax M5 (Molecular Devices) para leer las muestras con longitudes de onda de excitación, corte automático y longitudes de onda de emisión ajustadas a 488 nm, 515 nm y 525 nm, respectivamente. El ARN total y el ARN libre se determinan a partir de las curvas estándar apropiadas.

La eficiencia de encapsulación se calcula como (ARN total – ARN libre)/ARN total. Se puede utilizar el mismo procedimiento para determinar la eficiencia de encapsulación de un componente de carga a base de ADN. Para el ADN de cadena simple se puede usar el colorante Oligreen y para el ADN de cadena doble, colorante Picogreen.

Típicamente, cuando se preparan LNPs, la encapsulación fue> 80%, el tamaño de partícula fue <120 nm, y pdi fue <0,2.

Administración de LNP in vivo

A menos que se indique lo contrario, en cada estudio se utilizaron ratones hembra CD–1, que varían de 6 a 10 semanas de edad. Los animales se pesaron y se agruparon de acuerdo con el peso corporal para preparar soluciones de dosificación basadas en el peso promedio del grupo. Las LNP se administraron a través de la vena lateral de la cola en un volumen de 0,2 ml por animal (aproximadamente 10 ml por kilogramo de peso corporal). Los animales se observaron aproximadamente 6 horas después de la dosis para detectar efectos adversos. El peso corporal se midió a las veinticuatro horas posteriores a la administración, y los animales se sacrificaron en varios puntos de tiempo por

exsanguinación mediante punción cardíaca bajo anestesia con isoflourano. La sangre se recogió en tubos separadores de suero o en tubos que contienen citrato de sodio tampón para plasma como se describe en la presente. Para los estudios que incluyeron la edición in vivo, se recogió tejido hepático del lóbulo mediano o de tres lóbulos independientes (por ejemplo, mediana derecha, mediana izquierda y lóbulos laterales izquierdos) de cada animal para la extracción y análisis de ADN.

Se midieron las cohortes de ratones para determinar la edición hepática mediante la secuenciación de próxima generación (NGS) y los niveles séricos de TTR (datos no mostrados).

Análisis ELISA de transtiretina (TTR)

Se recogió sangre y se aisló el suero como se indica. Los niveles de TTR séricos totales de ratón se determinaron usando un kit ELISA de prealbúmina de ratón (transtiretina) (Aviva Systems Biology, Cat. OKIA00111). Los niveles séricos de TTR de rata se midieron usando un kit ELISA específico para rata (Aviva Systems Biology número de catálogo OKIA00159) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Brevemente, los sueros se diluyeron en forma seriada con el diluyente de la muestra del kit hasta una dilución final de 10,000 veces. Esta muestra diluida se añadió luego a las placas de ELISA y el ensayo se llevó a cabo de acuerdo con las instrucciones.

Secuenciación NGS

En resumen, para determinar cuantitativamente la eficiencia de la edición en la ubicación deseada en el genoma, se aisló el ADN genómico y se utilizó una secuenciación profunda para identificar la presencia de inserciones y supresiones introducidas por la edición de genes.

Los cebadores de PCR se diseñaron alrededor del sitio blanco (por ejemplo, TTR), y se amplificó el área genómica de interés. Las secuencias de cebadores se proporcionan a continuación. Se realizó una PCR adicional de acuerdo con los protocolos del fabricante (Illumina) para añadir la química necesaria para la secuenciación. Los amplicones se secuenciaron en un instrumento Illumina MiSeq. Las lecturas se alinearon con el genoma de referencia humano (por ejemplo, hg38) después de eliminar las que tienen puntuaciones de calidad bajas. Los archivos resultantes que contienen las lecturas se mapearon en al genoma de referencia (archivos BAM), donde se seleccionaron las lecturas que se superpusieron con la región blanco de interés y se calculó el número de lecturas de tipo salvaje versus el número de lecturas que contienen una inserción, sustitución o supresión.

El porcentaje de edición (por ejemplo, la "eficiencia de edición" o "porcentaje de edición") se define como el número total de lecturas de secuencia con inserciones o supresiones respecto del número total de lecturas de secuencia, incluido el tipo salvaje.

1. Caracterización in vivo de ARNm Cas9s con nucleótidos modificados

Los ARNm que comprenden un ORF como se expone en la SEQ ID NO: 5 se prepararon con un contenido de nucleótidos modificado variable como se muestra en la Tabla 5 a continuación. Los ARNm se combinaron con un ARN guía (G282; SEQ ID NO: 42) que se dirige al gen de la transtiretina (TTR) y se incorporaron a las LNP. Se utilizó citidina no modificada en todas las LNP excepto LNP420.

Tabla 5. LNP417–LNP421 para estudios *in vivo*

LNP	Cas9 SEQ ID NO	Nucleótidos modificados
LNP417	5	N1–metil–pseudouridina
LNP418	5	Ninguno

LNP419	5	Pseudouridina
LNP420	5	Pseudouridina y 5–metil citidina
LNP421	5	60% N1–metil–pseudouridina (40% uridina no modificada)

LNP417–LNP421 se administraron a ratones a dosis de 0,5 mg/kg (mpk) o 1 mpk. La inducción de citoquinas (IFN alfa, IL–6, TNF alfa y MCP–1) se midió 4 horas después de la dosis (hpd). Los resultados se muestran en las **Figs. 1A–D**. En la necropsia, 7 días después de la dosis, se recogieron el suero y el hígado para la medición de la TTR en suero y el análisis de la eficacia de edición, respectivamente. Los resultados se muestran en las **Figs. 2A–B**. Se observó que el uso de pseudouridina y 5–metil CTP anuló casi por completo la inducción de citoquinas. El uso de N1–metil pseudouridina a 60% (LNP421) o 100% (LNP417) también provocó una menor inducción de citoquinas que el ARNm Cas9 no modificado, y el grado de reducción a 60% de N1–metil pseudouridina fue similar a 100%.

Todos los constructos de Cas9 modificados fueron igualmente efectivos para reducir la TTR sérica y fueron más efectivos que los constructos no modificados, tal vez debido a una mayor estabilidad. De acuerdo con los datos de edición del hígado, los constructos que usan pseudouridina y N1–metil pseudouridina fueron igualmente efectivos. El constructo con pseudouridina y 5–metil citidina fue significativamente menos efectivo que el de pseudouridina sola. El constructo con 60% de N1–metil pseudouridina puede haber sido ligeramente menos efectivo que el constructo con 100% de N1–metil pseudouridina.

2. Desarrollo y caracterización *in vitro* de ARNm modificados que codifican Cas9

Se diseñó una secuencia de Cas9 (SEQ ID NO: 1) para mejorar la expresión del hígado y minimizar las uridinas. Los codones se eligieron sobre la base del contenido mínimo posible de uridina y la máxima expresión del ARNt correspondiente en el hígado. Para la expresión de ARNt hepático, ver Dittmar KA, *PLos Genetics* 2(12):e221 (2006). La reducción del contenido de uridina del ARNm Cas9 estaban destinada a disminuir la respuesta inmune innata al ARNm y/o proporcionar otros beneficios. La **Tabla 6** muestra el codón de hígado óptimo basado en los niveles de ARNt y un codón con el mínimo número posible de uridinas. Las instancias en las que el codón de uridina mínimo difiere del codón de hígado óptimo están en **negrita y cursiva**. La Tabla también muestra el número de cada aminoácido en la secuencia de aminoácidos de S. pyogenes Cas9 (SEQ ID NO: 3).

Tabla 6: Parámetros de optimización de codón

	Aminoácido	Codón de hígado óptimo	Codón de uridina mínimo	Frecuencia de Cas9
A	Alanina	GCA	GCA	73
G	Glicina	GGA	GGA	73
V	Valina	GTC	GTC	74
D	Ácido aspártico	GAT	***GAC***	100
E	Ácido glutámico	GAA	GAA	111
I	Isoleucina	ATC	ATC	93
T	Treonina	ACA	ACA	66
N	Asparagina	AAC	AAC	70
K	Lisina	AAG	AAG	155
S	Serina	TCG	***AGC***	79

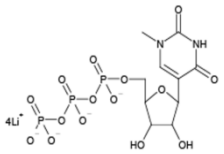
R	Arginina	AGA	AGA	79
L	Leucina	CTG	CTG	148
P	Prolina	CCG	CCG	36
H	Histidina	CAC	CAC	32
Q	Glutamina	CAG	CAG	52
F	Fenilalanina	TTC	TTC	64
Y	Tirosina	TAC	TAC	55
C	Cisteína	TGC	TGC	2
W	Triptófano	TGG	TGG	7
M	Metionina	ATG	ATG	22

En el caso del ácido aspártico y la serina, el codón hepático correspondiente al ARNt de expresión más alta comprendía una timidina, que se puede transcribir como uridina en el ARNm correspondiente. El codón de uridina mínimo se eligió para el ácido aspártico y la serina (GAC y AGC, respectivamente). La secuencia de ORF Cas9 fue de 4140 nt de largo, contenía 528 U (contenido de uridina de 12,8%), y se evitó tener alguna corrida de las 3 o más uridinas consecutivas en el ORF. Hubo 63 casos de dinucleótidos UU en la secuencia (126/4140 = 3% de contenido de dinucleótido uridina). La SEQ ID NO: 2 proporciona una secuencia Cas9 alternativa que contiene 19,6% de uridina como un ORF de ARN.

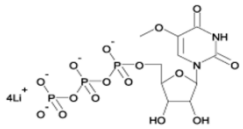
SEQ ID NO: 3 proporciona la secuencia de aminoácidos de Cas9, que está codificada por la SEQ ID NOs:1 y 2, ya que el nuevo diseño del ORF Cas9 no alteró la secuencia de aminoácidos codificada. La SEQ ID NO: 4 es la versión de ARN del ORF de la SEQ ID NO: 1. SEQ ID NO: 5 es la versión de ARN del ORF de la SEQ ID NO: 2.

También se evaluaron los efectos de los nucleótidos modificados. Las UTP modificadas usadas oara transcribir la transcripción de Cas9 incluían N1–metil–pseudo–UTP y 5–metoxi–UTP.

La estructura de N1–metil–pseudo–UTP es:



La estructura de 5–metoxi–UTP es:



Los rendimientos de la transcripción in vitro (IVT) se determinaron para los ARNm que comprenden los ORF de la SEQ ID NO: 4 y 5. Ambos codificaron una señal de localización nuclear (NLS). La secuencia que comprende la SEQ ID NO: 5 se transcribió en presencia de UTP no modificada o N1–metil–pseudo–UTP. La secuencia que comprende la SEQ ID NO: 4 se transcribió en presencia de UTP no modificada. La IVT también se realizó con porcentajes crecientes de 5–metoxi–UTP, como se muestra en el eje X de la **Figura 3**, que muestra los rendimientos para cada uno de estos constructos, determinados espectrofotométricamente. Estos resultados muestran que hubo una ligera disminución en el rendimiento a medida que aumentó el contenido de 5–metoxiuridina del ARNm, pero el rendimiento del ARNm fue aceptable en todas las condiciones. Por lo tanto, ARNm Cas9 se puede generar para ambas secuencias de Cas9 con rendimientos aceptables en las condiciones probadas.

La pureza de los ARNm transcriptos in vitro se calculó mediante el análisis del área bajo la curva (AUC) en las trazas de electroforesis capilar (CE) del ARNm obtenidas usando un bioanalizador Agilent 2100 (**Figura 4**). La SEQ ID NO: 5 de ARNm Cas9 generada con UTP no modificada generalmente aumentó en pureza

al aumentar la sustitución de 5–metoxi–UTP, mientras que el mismo contracto obtenido con N1–metil–pseudo–UTP fue menos afectado al aumentar la sustitución de 5–metoxi–UTP.

La SEQ ID NO: 4 Cas9 hecha con UTP no modificada parecía relativamente no afectada por la sustitución de 5–metoxi–UTP, con un ligero aumento en la pureza entre 0 y 20% de sustitución con 5–metoxi–UTP.

La SEQ ID NO: 4 Cas9 obtenida con UTP no modificada parecía relativamente no afectada por la sustitución de 5–metoxi–UTP, con un ligero aumento en la pureza entre 0 y 20% de sustitución con 5–metoxi–UTP.

La inmunogenicidad de diferentes ARNm se evaluó mediante un análisis de transferencia puntual con un anticuerpo anti–ARNds como una medición del carácter del ARNm de doble cadena (ds), un indicador de inmunogenicidad potencial **(Figuras 5A–D)**. Las **Figuras 5B y 5D** usaron la secuencia de ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 5 y la **Figura 5C** usó la secuencia de ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 4. Para los constructos generados con UTP no modificada (**Figuras 5B–C**), hubo una disminución general en la doble cadena aparente con un aumento del contenido de 5–metoxi–UTP. El ARNm generado con N1–metil–pseudo–UTP (**Figura 5D**) mostró menos unión al anticuerpo anti–ARNds pero la unión al anticuerpo también pareció disminuir al aumentar el contenido de 5–metoxi–UTP.

A continuación, se evaluó la eficiencia de la edición in vitro por transfección del ARNm junto con una guía (G209; SEQ ID NO: 64) dirigida a la transtiretina (TTR) en células Neuro 2A y medición del porcentaje de edición.

Como se muestra en la **Figura 6A**, se evaluaron ARNm Cas9 transcripto de un constructo que comprende la SEQ ID NO: 2 con N1–metil–pseudo–UTP con 2 secuencias de localización nuclear y una marca HA (grupo indicado por la llave más a la izquierda), ARNm Cas9 transcripto de un constructo que

comprende la SEQ ID NO: 2 transcripta con UTP con 2 secuencias de localización nuclear y una marca HA (grupo indicado por la llave central), y ARNm Cas9 transcripto de un constructo que comprende la SEQ ID NO: 1 con UTP (grupo indicado por la llave más a la derecha). Para cada grupo, se evaluaron diferentes concentraciones de ARNm de 0,1 ng a 100 ng con la transcripción en cantidades crecientes de 5–metoxi–UTP de 0% a 100% como se indica en el eje X. Las células no tratadas no mostraron una edición medible. La **Figura 6B** muestra los datos de eficiencia de edición expresados como valores de EC50 (ng).

El aumento del contenido de 5–metoxi–UTP durante la transcripción parece tener un efecto negativo en la eficiencia de edición en ambas condiciones de SEQ ID NO: 5, los transcriptos que también contienen N1–metil–pseudo–UTP son más robustos que los transcriptos que contienen UTP (por ejemplo, en 60% y 80% de 5–metoxi–UTP). En contraste, la eficiencia de edición con la secuencia de ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 4 mostró poco o ningún efecto al aumentar el contenido de 5–metoxi–UTP. Por lo tanto, de acuerdo con este sistema, la secuencia de ARNm Cas9 que comprende el ARNm de la SEQ ID NO: 4 puede proporcionar una eficiencia de edición similar con hasta un 100% de 5–metoxi–uridina como las versiones que contienen uridina no modificada.

3. Caracterización *in vivo* de ARNm que codifica Cas9

Se evaluaron la eficacia in vivo de la secuencia ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 4 versus la secuencia ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 5 y el efecto de la transcripción de la secuencia ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 4 en presencia de UTP no modificada, N1–metilpseudo–UTP, 40% de 5–metoxi–UTP + 60% de UTP no modificada, o 100% de 5–metoxi–UTP. La Tabla 7 proporciona información sobre estos grupos de

estudio in vivo. Cada ARNm se administró como una formulación de nanopartículas lipídicas (LNP).

Tabla 7. LNP720–LNP724 para estudios *in vivo*

LNP	ORF Cas9 SEQ ID NO	Nucleótido modificado
LNP720	5	N1–metil–pseudouridina
LNP721	4	N1–metil–pseudouridina
LNP722	4	No modificado
LNP723	4	40% 5–metoxiuridina/60% no modificado
LNP724	4	5–metoxiuridina

El diseño del estudio in vivo fue el siguiente. Los ratones hembra CD–1 eran de Charles River (n = 5 por grupo). Los animales se trataron por vía intravenosa (i.v.) con 1 mg por kilogramo (mpk) o 0,5 mpk junto con un ARN guía único dirigido contra la transtiretina (TTR) (SEQ ID NO: 42). Los animales que reciben una dosis de 1 mpk se sangraron 4 horas después de la dosis (hpd) para el análisis de citoquinas de MCP–1, IL–6, IFN–alfa y TNF–alfa. Los animales se evaluaron a 24 hpd por bienestar general. La necropsia se realizó 7 días después de la dosis, la sangre se recogió para el análisis de TTR en suero y el hígado se extrajo para el análisis de edición de secuenciación de próxima generación (NGS).

Se recogió suero de animales tratados con 1 mpk y 4 hpd, y se preparó el suero y se corrió en el ensayo ProcartaPlex® Mouse 4–plex (Thermo Fisher) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los resultados para los niveles séricos de MCP–1, IL–6, IFN–alfa y TNF–alfa se presentan en las **Figuras 7A–D**. Estos resultados indicaron que la secuencia de ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 4

preparada con una UTP modificada (LNP721, LNP723 o LNP724) mostró niveles relativamente bajos de producción de citoquinas.

Los niveles de TTR en el suero también se evaluaron 7 días después de la dosis, como se muestra en la **Figura 8A** y la **Tabla 8**. La muestra de TSS (es decir, 5% de sacarosa, 45 mM de NaCl, 50 mM de Tris a pH 7,5) indica niveles de TTR sin tratamiento con LNP. Todas las formulaciones de LNP se describen en la Tabla 7.

Tabla 8: Resultados de los niveles de TTR séricos después de la dosificación de LNP720–LNP724

LNP	ORF Cas9 SEQ ID NO	Nucleótido modificado	TTR (ug/ml), 0,5 mpk	TTR (ug/ml), 1 mpk
TSS	N/A	N/A	1019,0	
LNP720	5	N1–metil–pseudouridina	559,4	287,2
LNP721	4	N1–metil–pseudouridina	160,1	35,3
LNP722	4	No modificado	483,4	247,0
LNP723	4	40% 5–metoxiuridina/ 60% no modificado	525,8	170,1
LNP724	4	5–metoxiuridina	774,0	505,4

La **Tabla 9** y la **Figura 8B** proporcionan resultados en términos de porcentaje de edición de TTR en el hígado medido por secuenciación de la próxima generación (NGS).

Tabla 9: Resultados como porcentaje de edición de TTR en hígado después de la dosificación de LNP720–LNP724

LNP	Cas9 SEQ ID NO	Nucleótido modificado	% de edición, 0,5 mpk	% de edición, 1 mpk
TSS	N/A	N/A	0,16	
LNP720	5	N1–metil–pseudouridina	34,9	50,3
LNP721	4	N1–metil–pseudouridina	63,3	74,8
LNP722	4	No modificado	43,6	53,7
LNP723	4	40% 5–metoxiuridina/ 60% no modificado	31,8	63,2
LNP724	4	5–metoxiuridina	15,9	35,2

En comparación con la muestra de control de TSS, todas las LNP que comprenden Cas9 mostraron una reducción en los niveles séricos de TTR y la edición por encima del nivel inicial. Al comparar ARNm Cas9 estándar (SEQ ID NO:5, LNP720) con la secuencia de ARNm Cas9 que comprende el ARNm de SEQ ID NO: 4 (SEQ ID NO:4, LNP721), ambos se transcribieron con N1–metil–pseudo–UTP, la secuencia de ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 4 mostró una actividad mejorada (% edición de TTR menor y mayor). Para la secuencia de ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 4, la actividad fue más alta con N1–metil–pseudo–UTP, y la transcripción con 40% de 5–metoxi–UTP +

60% de UTP no modificada (LNP723) dio mayor actividad que con 100% 5–metoxi–UTP (LNP724).

Como medida de los efectos fuera del blanco, también se midió la edición en el bazo para animales a los que se les administró 1 mpk de las formulaciones de LNP descriptas anteriormente, como se muestra en la **Figura 7** y **Tabla 10**. Para todas las formulaciones de LNP, ya sea con Cas9 o Cas9 optimizado, se observó una más de 20 veces de edición en el hígado (**Figura 6A**).

Tabla 10: Resultados del porcentaje de edición de TTR en bazo después de la dosificación de 1 mpk de las LNP que comprenden ARNsg y varias Cas9

LNP	Cas9 SEQ ID NO	Nucleótido modificado	% de edición, 1 mpk
TSS	N/A	N/A	0,1
LNP720	5	N1–metil–pseudouridina	0,66
LNP721	4	N1–metil–pseudouridina	2,42
LNP722	4	No modificado	0,68
LNP723	4	40% 5–metoxiuridina/ 60% no modificado	1,12
LNP724	4	5–metoxiuridina	0,34

4. Caracterización de eficacia de ARNm que codifica Cas9 en hepatocitos primarios de ratón

La eficacia de varias LNP se evaluó in vitro en hepatocitos primarios de ratón (PMH). A 100 ng, todas las LNP descriptas en la Tabla 5 soportaron la edición de TTR, como se muestra en la **Figura 10**. Como se esperaba, las células no tratadas no mostraban una edición medible de TTR.

La Tabla 11 muestra los valores de EC50 calculados para cada LNP sobre la base de los datos presentados en la Figura 10.

Tabla 11: Valores de EC50 estimados (ng) para la edición génica de *TTR* en PMH

LNP	EC50
LNP720	45.65
LNP721	23.04
LNP722	54.00
LNP723	52.40
LNP724	164.1
LNP685	59.88

5. Caracterización *in vivo* de LNP que contienen ARNm Cas9 en ratas

La eficacia in vivo de la secuencia de ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 4 versus la secuencia de ARNm Cas9 que comprende la SEQ ID NO: 5 se evaluó en ratas. La Tabla 12 proporciona información sobre estos grupos de estudio in vivo. El ARNm Cas9 estándar se refiere a la SEQ ID NO: 5, mientras que el ARNm reducido en U (U–dep) se refiere a la SEQ ID NO: 4. Cada ARNm se administró como una formulación de nanopartículas lipídicas (LNP). Los detalles de las formulaciones de LNP LNP716 (Standard Cas9) y LNP738 (reducido en U) se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12: Caracterización de la formulación de LNP

LNP ID	**ARN prep y proceso**	**N:P**	**Concentra-ción de ARN (mg/ml)**	**Encapsula-ción**	**Tamaño de partícula (nm)**	**PDI Partí-cula**
716	Citrato–NaCl; X–flujo_TFF	4,5	2,00	98	88,42	0,056
738	Citrato–NaCl; X–flujo_TFF	4,5	2,22	97	92,80	0,044

PDI = índice de polidispersidad

N:P = relación N:P, como se describió anteriormente

Se midió TTR en suero como se describió previamente.

Se comparó ARNm Cas9 que tiene un ORF de SEQ ID NO: 5 con ARNm Cas9 que tiene un ORF de la SEQ ID NO: 4 (**Fig. 11A–B**) en ratas a dosis de 2 mpk y 5 mpk, como se muestra en la **Figura 9A** y **Tabla 13**. Estos datos indican que el ORF Cas9 de la SEQ ID NO: 4 indujo una mayor reducción en la TTR sérica en comparación con el ORF Cas9 de la SEQ ID NO: 5 tanto en 2mpk como en 5mpk. La **Figura 9B** y la **Tabla 13** presentan estos resultados como porcentajes con respecto al valor para el control tratado con TSS. La dosis de 5 mpk de LNP Cas9 U–dep indujo una reducción de más de 90% en los niveles séricos de TTR.

Tabla 13: Niveles de TTR séricos después de la dosificación con formulaciones de Cas9 LNP716 y LNP738

LNP	Cas9	Dosis (MPK)	TTR sèrico (ug/mL)	TTR sèrico (%KD)
TSS	-	-	1954.40	-
716	Estándar	5	950.36	51.37
		2	1474.58	24.55
738	U-Dep	5	153.30	92.16
		2	824.93	57.79

%KD = % de inactivación en comparación con la concentración sérica promedio de las muestras TSS.

La **Figura 10** y la **Tabla 14** muestran la edición hepática de TTR después de la dosificación con las formulaciones LNP716 (estándar) y LNP738 (U–dep) a 2 mpk y 5 mpk. Si bien el TSS mostró una edición insignificante, las formulaciones LNP716 y LNP738 indujeron la edición hepática de TTR. Al comparar las formulaciones, la formulación de LNP738 que comprende la reducción de U indujo más del doble de la edición de la formulación de LNP716 que comprende Cas9 estándar.

Tabla 14: Edición hepática de *TTR* después de la dosificación con las formulaciones de Cas9 reducido en U y estándar

LNP	Cas9	Dosis (MPK)	Edición hepática (%)
TSS	-	-	0.10
716	Estándar	5	32.14
		2	8.04
738	U-Dep	5	66.02
		2	31.60

Estos datos indican que ARNm Cas9 reducido en U aumentó marcadamente el grado de edición de *TTR* en el hígado.

6. Caracterización de ARNm con varios UTRs

Los ARNm que codifican Cas9 con UTR y +/– una marca de hemaglutinina (HA) como se indica en la **Tabla 15** se formularon como LNPs con un ARN guía dirigido a TTR (G282; SEQ ID NO: 42)). Las LNP se ensamblaron usando un Nano Assemblr™, contenían un 45% de lípido A, un 9% de DSPC, 44% de colesterol y 2% de PEG2k–DMG, se purificaron usando filtros Amicon PD10 y se utilizaron a una concentración de 0,5 mg/ml (concentración de LNP). A los ratones hembra CD–1 (n = 5 por grupo) se les administró i.v. a 0,5 o 1,0 mpk. 7 días después de la dosis, los animales se sacrificaron, se recogieron la sangre y el hígado y se midieron TTR en suero y la edición hepática

Tabla 15. **Descripciones de ARNm LNP662–LNP669 y resultados de los análisis de TTR sérico y edición hepática**

LNP	**Descripción de ARNm**	**Dosis (mpk)**	**TTR sérico(Avg ug/ml)**	**TTR sérico(Avg % KD)**	**Edición hepática (%)**
TSS	–	–	944,52		0,06
LNP662	ORF:SEQ ID NO: 5; sin marca HA	1	729,56	22,76	20,08
		0,5	988,75	–4,68	8,26
LNP663	ORF:SEQ ID NO: 45 con marca HA	1	488,62	48,27	39,12
		0,5	842,88	10,76	20,18
LNP664	ORF:SEQ ID NO: 45 con marca HA; HBA UTRs	1	628,35	33,47	32,68
		0,5	1087,10	–15,10	14,68
LNP665	ORF:SEQ ID NO: 45 con marca HA; HBB UTRs	1	524,43	44,48	42,70
		0,5	797,37	15,58	18,72
LNP666	ORF:SEQ ID NO:	1	233,46	75,28	54,28

	45 con marca HA; UTR XBGs	0,5	1011,22	–7,06	17,96
LNP667	ORF:SEQ ID NO: 4; no HA tag	1	197,58	79,08	58,64
		0,5	689,24	27,03	31,26
LNP668	ORF:SEQ ID NO: 4; no HA marca; no modificado NTPs	1	622,42	34,10	34,44
		0,5	811,94	14,04	21,30
LNP669	ORF:SEQ ID NO: 5; no HA Marca; no modificado NTPs	1	1050,68	–11,24	9,82
		0,5	1189,70	–25,96	4,04

Las UTR en los ARNm fueron HSD/Alb a menos que se indique lo contrario. HBA:alfa globina humana; HBB:beta globina humana (HBB); XBG:beta globina de xenopus (XBG). Los ARNm contenían 100% de N1–metil pseudouridina en lugar de uridina, a menos que se indique lo contrario.

Las **Figuras 13A–E** muestran TTR en suero (como µg/ml en la **Fig. 13A** y % de TSS en la **Fig. 13B**); edición hepática para todas las LNP 662–669 (**Fig. 13C**); edición hepática para LNP663–LNP666 en la que solo variaron las UTR (**Fig. 13D**); y edición hepática para LNP662 y LNP667–LNP669 en la que solo variaron la secuencia de ARNm y la modificación de UTP (**Fig. 13E**).

Las UTR de albúmina humana, globulina alfa humana, globina beta humana y globina beta de xenopus fueron aproximadamente igualmente efectivas; los valores con la globina alfa humana pueden ser ligeramente más bajos, pero no está claro si la diferencia fue significativa.

El ORF de SEQ ID NO: 4, que contiene menos uridinas, aumentó la cantidad de edición hepática. Los ARNm de Cas9 obtenidos con N1–metil

pseudouridina fueron más efectivos que los ARNm Cas9 obtenidos con uridina no modificada.

7. Edición in vitro e in vivo con diferentes relaciones de guía:Cas9

Los ARNm que comprenden un ORF de acuerdo con la SEQ ID NO: 4 o la SEQ ID NO: 5 se formularon como LNP con una guía de ARN dirigida a TTR, con guía variable: relaciones en peso de ARNm Cas9 como se muestra en la Tabla 16. El ARNm de Cas9 se formó mediante síntesis de IVT como se indicó anteriormente con N1–metilpseudouridina trifosfato en lugar de uridina trifosfato, HSD 5'UTR, albúmina humana 3' UTR y una cola poli–A.

Tabla 16. LNPs 815–824 para estudios *in vitro* e *in vivo*

LNP	Cas9 SEQ ID NO	Relación de ARN (guía:Cas9)
LNP815	5	2:1
LNP816	5	1:1
LNP817	5	1:2
LNP818	5	1:4
LNP819	5	1:8
LNP820	4	2:1
LNP821	4	1:1
LNP822	4	1:2
LNP823	4	1:4
LNP824	4	1:8

Se colocaron hepatocitos primarios de ratón (PMH) en medios de cultivo suplementados con 3% de suero de mono cynomolgus durante 24 horas y

luego se trataron con 0,3, 1, 3 o 10 ng de un LNP mostrado en la Tabla 16. Las células se lisaron después de 48 La edición de hr y el % fue determinado por NGS. Los resultados se muestran en la Fig. 14 y en la Tabla 17.

Tabla 17. Edición in vitro en PMHs

LNP	ARNm	Guía:ARNm ratio	10 ng	3 ng	1 ng	0,3 ng
LNP815	5	2:1	75,0	41,7	9,3	1,3
LNP816	5	1:1	80,9	51,5	15,5	2,6
LNP817	5	1:2	79,1	49,8	16,3	2,2
LNP819	5	1:8	90,7	67,2	27,8	5,2
LNP820	4	2:1	78,8	44,3	9,8	0,9
LNP821	4	1:1	81,9	49,9	12,3	2,1
LNP823	4	1:4	85,5	58,3	17,8	2,0
LNP824	4	1:8	84,9	47,4	13,1	1,6

Para la caracterización in vivo, se administraron LNPs a ratones a 0,2, 0,5 o 1 mpk (n = 5 por grupo). 8 días después de la dosis, se sacrificaron los animales, se recogieron la sangre y el hígado y el bazo, y se midieron la TTR del suero, la edición del hígado y la edición del bazo. Los resultados de TTR sérico se muestran en las Figs. 15A–B y la Tabla 18. Los resultados de la edición del hígado se muestran en las Figs. 16A–B y la Tabla 19. Los resultados de la edición del bazo se muestran en las Figs. 17A–B y la Tabla 20. Los ratones de control negativo recibieron una dosis de vehículo (solución de transformación y almacenamiento; "TSS"). Se realizaron controles separados para los experimentos con LNP815–LNP819 y para los experimentos con LNP820–LNP824.

Tabla 18. Niveles séricos de TTR después de la dosis con LNP815–LNP824

LNP	Relación guía:Cas9	Dosis (mpk)	TTR sérico (ug/mL)	TTR sérico (% de KD)
TSS			974,23	–
LNP815	2:1	1	300,32	69,17
		0,5	539,37	44,64
		0,2	800,85	17,80
LNP816	1:1	1	183,61	81,15
		0,5	466,63	52,10
		0,2	859,05	11,82
LNP817	1:2	1	117,86	87,90
		0,5	487,26	49,99
		0,2	715,35	26,57
LNP818	1:4	1	168,44	82,71
		0,5	428,89	55,98
		0,2	935,14	4,01
LNP819	1:8	1	323,87	72,29
		0,5	664,80	31,76
		0,2	1039,66	–6,72
TSS			1104,27	–
LNP820	2:1	1	38,12	96,55
		0,5	122,59	88,90
		0,2	358,88	67,50
LNP821	1:1	1	38,53	96,51
		0,5	190,30	82,77

		0,2	501,05	54,63
LNP822	1:2	1	25,76	97,67
		0,5	123,34	88,83
		0,2	520,73	52,84
LNP823	1:4	1	28,00	97,46
		0,5	98,99	91,04
		0,2	529,35	52,06
LNP824	1:8	1	93,65	91,52
		0,5	174,43	84,20
		0,2	731,43	33,76

% de KD da el % de knock down en el nivel de TTR respecto del control de TSS.

Tabla 19. Edición en hígado después de la dosis con LNP815–LNP824

LNP	**Relación de guía:Cas9**	**Dosis (MPK)**	**% de edición**
TSS			0,78
LNP815	2:1	1	57,52
		0,5	38,76
		0,2	12,28
LNP816	1:1	1	63,46
		0,5	40,26
		0,2	14,12
LNP817	1:2	1	68,18
		0,5	38,38
		0,2	17,58

LNP818	1:4	1	61,8
		0,5	41,58
		0,2	9,44
LNP819	1:8	1	55,88
		0,5	31,26
		0,2	6,4
TSS			0,22
LNP820	2:1	1	67
		0,5	69,58
		0,2	48,78
LNP821	1:1	1	75,82
		0,5	64,02
		0,2	41,2
LNP822	1:2	1	73,26
		0,5	69,74
		0,2	44,16
LNP823	1:4	1	75,48
		0,5	66,7
		0,2	38,7
LNP824	1:8	1	69,14
		0,5	63,16
		0,2	20,78

El LNP820–LNP824 generalmente dio resultados de edición de hígado mayores o aproximadamente iguales a sus homólogos de LNP815–LNP819 con la misma relación. LNP820–LNP824 mostró un rendimiento constante en todo el

rango de relaciones analizadas a 0,5 y 1 mpk, y en relaciones de 2: 1 a 1: 4 a 0,2 mpk.

Tabla 20. Edición en el bazo después de la dosis con LNP815–824

LNP	**Relación de guía:Cas9**	**Dosis (MPK)**	**% de edición**
TSS			0,12
LNP815	2:1	1	0,6
		0,5	0,62
		0,2	0,28
LNP816	1:1	1	0,74
		0,5	1
		0,2	0,28
LNP817	1:2	1	0,74
		0,5	0,58
		0,2	0,22
LNP818	1:4	1	1,22
		0,5	0,44
		0,2	0,3
LNP819	1:8	1	0,9
		0,5	0,64
		0,2	0,36
TSS			0,225
LNP820	2:1	1	0,83
		0,5	0,825
		0,2	0,525

LNP821	1:1	1	1,425
		0,5	0,9
		0,2	0,425
LNP822	1:2	1	1,85
		0,5	0,625
		0,2	1,74
LNP823	1:4	1	1,475
		0,5	0,8
		0,2	0,32
LNP824	1:8	1	1,14
		0,5	1,34
		0,2	0,56

Se dosificaron grupos adicionales de ratones (n = 2) a 3 mpk con cada formulación y se sacrificaron a 6 hpd para la determinación de la expresión de proteínas en el hígado. En la Fig. 18 se muestra una transferencia Western de proteína hepática de ratones tratados con 3 mpk de formulaciones con una proporción de 1: 1 y 1: 4 (LNP816, LNP818, LNP821 y LNP823). El Ab primario para Western fue el anticuerpo de conejo Immunoprecise™ anti–Cas9 a 1: 5,000 y el Ab secundario fue Dylight™ de cabra anti–conejo a 1: 12,500. La expresión de la proteína Cas9 fue notablemente más alta en los LNP al usar el ARNm con un ORF de la SEQ ID NO: 4.

8. Caracterización de los efectos de nucleótidos modificados

Los ARNm que codifican Cas9 y que contienen nucleótidos modificados como se indica en la Tabla 21 se formularon como LNP con una guía de ARN que se dirige a TTR (G282; SEQ ID NO: 42). LNP1034 contenía un ARNm de Cas9

obtenido comercialmente de Trilink Biotechnologies, LLC e incluía un CleanCap™ (estructura Cap1 en la que el primer nucleótido después de la tapa de 7–metilguanina está 2'–O–metilado). LNP1027–LNP1033 contenía un ARNm que comprende un ORF de acuerdo con la SEQ ID NO: 4 y un ARCA (análogo de capuchón inverso) Cap0. Los LNP se ensamblaron utilizando un Nano Assemblr™, contenían un 45% de lípido A, un 9% de DSPC, un 44% de colesterol y un 2% de PEG2k–DMG, se purificaron utilizando filtros Amicon PD10 y se suspendieron en tampón TSS. La relación N:P (nitrógeno a fosfato) en los LNPs fue de 4,5 y la concentración de ARN de las formulaciones fue de 0,4 mg/ml. Ratones hembra CD–1 (n = 5 por grupo) se dosificaron i.v. a 0,1 o 0,3 mpk. 7 días después de la dosis, se sacrificaron los animales, se recogieron la sangre y el hígado y se midieron la TTR y la edición del hígado.

Tabla 21. LNP1027–LNP1034 para estudios *in vivo*

LNP ID	**Cas9 ORF**	**Cap**	**Nucleótidos modificados**
LNP1027	SEQ ID NO: 4	ARCA	N1–metilpseudouridina
LNP1028	SEQ ID NO: 4	ARCA	25% 5–yodouridina
LNP1029	SEQ ID NO: 4	ARCA	50% 5–yodouridina
LNP1030	SEQ ID NO: 4	ARCA	25% 5–yodocitidina
LNP1031	SEQ ID NO: 4	ARCA	25% 5–yodouridina y 25% 5–yodocitidina
LNP1032	SEQ ID NO: 4	ARCA	Pseudouridina
LNP1033	SEQ ID NO: 4	ARCA	Pseudouridina y 5–metilcitidina
LNP1034	Trilink Cas9 ARNm	CleanCap™	5–metoxiuridina

Para LNPs en donde se enumeran los nucleótidos de uridina y/o citidina modificados al 25% o 50%, los restos de la uridina y/o citidina, respectivamente estaban no modificados.

Los resultados de la TTR sérico se muestran en la Fig. 19A–B (los resultados de la TTR sérico expresados en µg/mL y% de control de TSS, respectivamente); Fig. 20 (edición hepática); y Tabla 22.

Tabla 22. Resultados de TTR sérico y edición en hígado para LNPs 1027–1034

LNP ID	**Dosis (mpk)**	**Nucleótidos modificados**	**TTR sérico (ug/mL)**	**TTR sérico (% de KD)**	**% de edición medio**
TSS	–		1438,438	–	0,20
LNP1027	0,3	N1–metil pseudouridina	381,474	73,48	51,08
	0,1		979,404	31,91	15,76
LNP 1028	0,3	25% 5–yodouridina	311,738	78,33	54,96
	0,1		758,41	47,28	18,82
LNP1029	0,3	50% 5–yodouridina	714,748	50,31	31,94
	0,1		1034,69	28,07	8,26
LNP1030	0,3	25% 5–yodocitidina	676,164	52,99	26,28
	0,1		973,836	32,30	6,58
LNP1031	0,3	25% 5–yodouridina y 25% 5–	546,946	61,98	30,30
	0,1		969,92	32,57	6,12

		yodocitidina			
LNP1032	0,3	Pseudouridina	448,582	68,81	42,68
	0,1		947,602	34,12	9,60
LNP1033	0,3	Pseudouridina y 5–metilcitidina	979,284	31,92	11,36
	0,1		1031,33	28,30	2,22
LNP1034	0,3	5–metoxiuridina	1133,826	21,18	4,82
	0,1		1339,304	6,89	0,78

El ARNm que contiene N1–metil pseudouridina de LNP1027 tuvo una eficacia de edición ligeramente mayor en comparación con el ARNm que contiene pseudouridina de LNP1032. La potencia del ARNm que contiene pseudouridina y 5–metilcitidina (LNP1033) se redujo en gran medida. El ARNm que contiene 25% de 5–yodouridina mostró una eficacia de edición equivalente al ARNm que contiene N1–metil pseudouridina. Al 50% de 5–yodouridina, hubo una reducción en la potencia. El ARNm de 5–metoxiuridina de Trilink mostró baja actividad.

9. Caracterización de los efectos de ARNms con diferentes UTRs en ratas

Este estudio evaluó la eficacia in vivo en ratas de ARNm Cas9 con límite ARCA con HBB (beta–globina humana) 5'y 3' UTR; XBG (xenopus beta–globina) 5'y 3' UTRs; o con la UTR humana de HSD17B4 (HSD) 5'y albúmina (ALB) 3'.

Las formulaciones que contienen ARN guía dirigidas al gen TTR de rata (G534; SEQ ID NO: 72) y ARNm de Cas9 en una relación molar 1: 1 en LNP se prepararon usando el proceso de flujo cruzado descrito anteriormente y se filtraron en membranas VivaFlow™ 50. Los LNP contenían un lípido catiónico

(lípido A), colesterol, DSPC y PEG2k–DMG en una proporción molar de 45: 9: 43: 3 y tenían una relación N: P de 6,0. Las formulaciones se dosificaron a 1 mpk y 0,3 mpk. Todas las ratas fueron hembras Sprague Dawley de Charles River, n = 5 por grupo. En la necropsia (7 días después de la dosis), se recogió el suero para el análisis de TTR y se recogió el hígado para el análisis de edición. En LNP1058, el ARNm contenía UTR de HBB. En LNP1059, el ARNm contenía XBG UTR. En LNP1060, el ARNm contenía HSD y ALB 5'y 3' UTR, respectivamente. En todos los casos, la secuencia de codificación del ARNm fue de acuerdo con la SEQ ID NO: 4.

La edición de hígado y los resultados de TTR sérico se muestran en la Fig. 21A–C y en la Tabla 23.

Tabla 23. Resultados de edición de hígado y TTR sérico en ratas con LNP1058–LNP1060.

LNP	UTRs	Dosis (mpk)	Edición de hígado (%)	TTR sérico (µg/ml)	TTR sérico (% de KD)
TSS			0,0	1366,9	
1058	HBB (3' y 5')	1	66,3	84,4	93,8
		0,3	27,6	881,1	35,5
1059	XBG (3' y 5')	1	69,1	63,0	95,4
		0,3	31,6	748,7	45,2
1060	HSD (5') y ALB (3')	1	62,6	115,6	91,5
		0,3	20,9	896,0	34,4

Los resultados indican que todos los ARNm probados en LNP1058–LNP1060 fueron capaces de soportar la edición. El nivel más alto de edición y la

mayor disminución de la TTR sérica se observó con el ARNm que contiene UTR XBG en LNP1059.

10. Cargo de ADN: coformulaciones de ARNm y gARN

Este estudio evaluó la eficacia in vivo en ratones de diferentes proporciones de ARNg a ARNm. Los ARNm de Cas9 con capuchón CleanCap™ con el ORF de la SEQ ID NO: 4, HSD 5'UTR, albúmina humana 3' UTR, una secuencia de Kozak y una cola poli–A se elaboraron mediante síntesis de IVT como se indica en el Ejemplo 1 con N1–metilpseudouridina trifosfato en lugar de uridina trifosfato.

Se prepararon formulaciones de LNP a partir del ARNm descrito y sg282 (SEQ ID NO: 42; G282) como se describe en el Ejemplo 2 con lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k–DMG en una proporción molar de 55: 33: 9: 3 y con una relación N: P de 6. Las proporciones en peso de ARNm de gARN: Cas9 de las formulaciones se muestran en la Tabla 24.

Tabla 24. Caracterización de LNP1110–LNP1116.

LNP ID	Conc de ARN (mg/mL)	EE (%)	Tamaño de partícula (nm)	PDI de partícula	Prom en número (nm)
1110	0,92	99	69,52	0,022	56,47
1111	0,86	97	76,65	0,065	57,36
1112	0,90	99	76,58	0,036	63,11
1113	0,97	99	76,60	0,071	58,92

1114	1,05	99	76,34	0,018	62,82
1115	0,65	99	82,64	0,018	66,63
1116	0,75	100	82,01	0,039	65,05

Para la caracterización in vivo, los LNP anteriores se administraron a ratones a 0,1 mg de ARN total (mg de ARN guía + mg de ARNm) por kg (n = 5 por grupo). En 7–9 días después de la dosis. Se sacrificaron los animales, se recogieron la sangre y el hígado, y se midieron la TTR del suero y la edición del hígado como se describe anteriormente. Los resultados de la edición de hígado y TTR se muestran en la Fig. 22A y en la Fig. 22B. Los ratones de control negativo se dosificaron con vehículo TSS.

Además, los LNP anteriores se administraron a ratones a una dosis constante de ARNm de 0,05 mg de ARNm por kg (n = 5 por grupo), mientras que la dosis de ARNg varió de 0,06 mg por kg a 0,4 mg por kg. A los 7–9 días después de la dosis, se sacrificaron los animales, se recogieron la sangre y el hígado y se midieron la TTR y la edición del hígado. Los resultados de la edición de hígado y TTR se muestran en la Fig. 22C y en la Fig. 22D. Los ratones de control negativo se dosificaron con vehículo TSS.

11. Caracterización de los esquemas de codón

Se diseñaron secuencias Cas9 usando diferentes esquemas de codones para analizar la expresión mejorada de proteínas. Cada secuencia se diseñó para codificar el aminoácido Cas9 de la SEQ ID NO:3 usando un conjunto distinto de codones. En cada secuencia de marco de lectura abierta, se usó un codón único para codificar cada aminoácido. Las secuencias varían sobre la base de la frecuencia con la que se producen los codones en los genes de codificación de

proteínas completos en Homo sapiens según la versión 160,0 del Archivo Plano NCBI–GenBank (Nakamura et al. (2000) *Nucl. Acids Res.* 28, 292; Benson et al. (2006) *Nucleic Acids Res*. 34 (edición de la base de datos), D16–20) y la abundancia de un nucleótido particular entre los codones. Sobre la base de los esquemas de codones mostrados en la Tabla 4, se construyeron siete marcos de lectura abiertos diferentes para Cas9 (SEQ ID NO:52, 54 y 108–112) que codifican la proteína Cas9 de la SEQ ID NO: 3. Estos se incorporaron en los constructos que contienen 5 'UTR HSD (SEQ ID NO: 41), una 3' UTR de albúmina, un Promotor T7 y una cola poliA. Un ejemplo de secuencia que contiene la 3' UTR de albúmina y la cola poliA es la SEQ ID NO: 53, en la que la 3' UTR y la cola poliA siguen la 5 'UTR HSD y el ORF de la SEQ ID NO: 52. También se incluye en estas evaluaciones un constructo similar compuesto usando un esquema de codones basado en los codones óptimos para mejorar la vida media del ARNm como lo describen Presnyak y colegas (2015) (SEQ ID NO:107, usando el conjunto de codones de vida media larga de la Tabla 4) para codificar la proteína Cas9 de la SEQ ID NO:3

Se produjo ARN mensajero para cada constructo mediante IVT. Las células HepG2 se transfectaron con 800 ng de cada ARNm Cas9 usando el reactivo de transfección Lipofectamine™ MessengerMAX™ (ThermoFisher). Seis horas después de la transfección, las células se lisaron por congelación y descongelación y se clarificaron por centrifugación. Los niveles de proteína Cas9 se determinaron mediante un ensayo ELISA. En resumen, la concentración total de proteínas se determinó mediante un ensayo de ácido bicinconínico. Se preparó una placa SECTOR de estreptavidina de 96 pocillos MSD GOLD (Meso Scale Diagnostics, Cat. L15SA–1) de acuerdo con el protocolo del fabricante usando el anticuerpo Cas9 de ratón (Origene, Cat. CF811179) como el anticuerpo de captura y el mAb Cas9 de ratón (7A9–3A3). (Cell Signaling Technology, Cat.

14697) como el anticuerpo de detección. La proteína Cas9 se usó como estándar de calibración a 0, 0,12, 0,49, 1,95, 7,81, 31,25, 125 y 500 ng/ml en Diluyente 39 con 1X inhibidor de cóctel de proteasa Halt™, libre de EDTA (ThermoFisher, Cat. 78437). Las placas de ELISA se leyeron usando el instrumento Meso Quickplex SQ120 (Meso Scale Discovery) y los datos se analizaron con el paquete de software Discovery Workbench 4,0 (Meso Scale Discovery).

La eficiencia de edición se evaluó in vitro mediante la transfección de ARNm junto con una guía (G502; SEQ ID NO: 70) dirigid a la transtiretina (TTR) en células HepG2 y medición del porcentaje de edición. Los ARNm de Cas9 que comprenden las SEQ ID NOs. indicadas en la Tabla 25 se evaluaron a concentraciones de ARNm de 3 ng–100 ng. Las células no tratadas no mostraron una edición medible. Las Figuras 23–24 y la Tabla 25 muestran los efectos de los diferentes conjuntos de codones sobre la expresión y edición de proteínas Cas9 in vitro.

Tabla 25. Edición y expresión in vitro de ORF con diferentes conjuntos de codón.

ORF (conjunto de codón)	ng Cas9/mg proteína total	ng Cas9/mg proteína total Desviación estándar	% de edición (30 ng ARNm transfectado)	Edición desviación estándar
SEQ ID NO:50 (Tabla 6 codones de uridina mínimos, uniones de	10,99	1,04	35,6	2,11

empalme eliminadas)				
SEQ ID NO:107 (Tabla 4 vida media larga)	18,78	2,83	36,5	3,27
SEQ ID NO:52 (Tabla 4 U 1 baja)	31,23	4,47	22,2	2,83
SEQ ID NO:54 (Tabla 4 U 2 baja)	1,54	0,16	14,7	0,40
SEQ ID NO:108 (Tabla 4 U alta)	1,41	0,12	14,0	2,95
SEQ ID NO:109 (Tabla 4 G baja)	4,95	0,70	19,6	2,29
SEQ ID NO:110 (Tabla 4 C baja)	2,26	0,16	23,1	4,07
SEQ ID NO:111 (Tabla 4 A baja)	74,62	15,53	41,3	3,56
SEQ ID NO:112 (Tabla 4 A/U baja)	77,32	10,60	34,8	7,32
SEQ ID NO:4 (Tabla 6 codones de	17,16	1,54	34,7	1,15

uridina mínimos)				

Para determinar la efectividad de los esquemas de codones in vivo, se midió la expresión de la proteína Cas9 cuando se expresó in vivo a partir de los ARNm que codifican Cas9 usando esquemas de codones descritos en la Tabla 4. Los ARN mensajeros, como se indica en la Tabla 26, se formularon como LNP con un ARN guía que se dirige a la TTR (G282; SEQ ID NO: 42). Las LNP se ensamblaron usando el procedimiento de flujo cruzado y contenían 50% de lípido A, 9% de DSPC, 38% de colesterol y 3% de PEG2k–DMG en una relación molar de 50:38:9:3, respectivamente, y tenían una relación N:P de 6,0. Las LNP se purificaron usando filtros Amicon PD–10 (GE Healthcare) y se usaron a una concentración de 0,32 mg/ml (concentración de LNP). Ratones hembra CD–1 (n = 5 por grupo) se dosificaron i.v. a 1 mpk. A las 3 horas después de la dosis, los animales se sacrificaron, se recogió el hígado y se midió la expresión de Cas9 en el hígado. La expresión de la proteína Cas9 se midió en el hígado usando el ensayo ELISA Meso Scale Discovery descripto anteriormente. Se homogeneizaron aproximadamente 40 mg de tejido hepático mediante molino de perlas en tampón RIPA (Boston Bioproducts BP–115) con comprimido inhibidor de proteasa completa 1x (Roche, Cat, 11836170001). La Figura 25 y la TABLA 26 muestran los resultados de la expresión de Cas9 en el hígado. Los ARNm para los esquemas de codones dea A baja y A/U baja (ORF de SEQ ID NOs:111 y 112) mostraron la expresión más alta de Cas9 de los ORF analizados. La expresión de la proteína Cas9 del control negativo y el ORF de la SEQ ID NO: 54 estaban por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ).

TABLA 26

ORF	Cas9 promedio (ng/g hígado)	Desviación estándar
TSS	< LLOQ	0,0
SEQ ID NO:4	1644	1172
SEQ ID NO: 52	1562	951
SEQ ID NO: 54	< LLOQ	0,0
SEQ ID NO: 111	2630	730
SEQ ID NO: 112	2134	362

Para determinar la efectividad de los esquemas de codones in vivo, la edición del genoma se midió in vivo a partir de los ARNm que codifican Cas9 usando diferentes esquemas de codones. Los ARN mensajeros, como se indica en la Tabla 27, se formularon como LNP con un ARN guía dirigido a TTR (G282; SEQ ID NO: 42). Las LNP se ensamblaron usando el procedimiento de flujo cruzado y contenían 50% de lípido A, 9% de DSPC, 38% de colesterol y 3% de PEG2k–DMG en una relación molar de 50:38:9:3, respectivamente, y tenían una relación N:P de 6,0. Las LNP se purificaron usando filtros Amicon PD–10 (GE Healthcare) y se usaron a una concentración de 0,05 mg/ml (concentración de LNP). Ratones hembra CD–1 (n = 5 por grupo, excepto n = 4 para el grupo tratado con SEQ ID NO: 52) se dosificaron i.v. a 0,1 mpk. 6 días después de la dosis, los animales se sacrificaron, se recogieron la sangre y el hígado y se midieron la TTR en suero y

la edición hepática. La TABLA 27 y la Figura 26 muestran resultados de edición in vivo. La TABLA 27 y las Figuras 27A–B muestran los niveles séricos de TTR.

TABLA 27

ORF	% de edición prom	Edición desviación estándar	TTR sérico(µg/ml)	TTR sérico desviación estándar	n
TSS	0,06	0,05	856	68	5
SEQ ID NO:4	40,96	8,41	329	143	5
SEQ ID NO:107	44,28	11,45	255	97	5
SEQ ID NO:52	60,10	8,07	143	78	4
SEQ ID NO:54	1,50	0,66	822	161	5
SEQ ID NO:108	0,74	0,36	914	182	5
SEQ ID NO:111	57,26	4,15	216	62	5
SEQ ID NO:112	61,44	4,50	100	79	5

Para determinar la eficacia de los esquemas de codones a diferentes concentraciones, se realizó un experimento de dosis respuesta in vivo. Los ARN mensajeros, como se indica en la Tabla 28, se formularon como LNP con un ARN guía dirigido a TTR (G282; SEQ ID NO: 42). Las LNP se ensamblaron usando el método de flujo cruzado y contenían 50% de lípido A, 9% de DSPC, 38% de colesterol y 3% de PEG2k–DMG. Las LNP se purificaron usando filtros Amicon PD–10 (GE Healthcare) y se usaron a una concentración de 0,07 mg/ml (concentración de LNP). Ratones hembra CD–1 (n = 5 por grupo) se dosificaron i.v. a 0,03, 0,1, o 0,3 mpk. 7 días después de la dosis, los animales se sacrificaron, se recogieron la sangre y el hígado y se midieron la TTR en suero y

la edición hepática. La TABLA 28 y la Figura 28 muestran resultados de edición in vivo. La TABLA 28 y las Figuras 28A–B muestran los niveles séricos de TTR.

TABLA 28

ORF	Dosis (mpk)	Edición hepática (%)	TTR sérico (ug/ml)	TTR sérico (%KD)
TSS	n/a	0,1	576,8	0,0
SEQ ID NO:4	0,3	51,3	165,6	71,3
	0,1	17,3	540,7	6,3
	0,03	1,9	761,4	–32,0
SEQ ID NO:52	0,3	57,0	100,8	82,5
	0,1	29,6	336,1	41,7
	0,03	5,0	636,4	–10,3
SEQ ID NO: 111	0,3	59,4	93,8	83,7
	0,1	30,6	373,5	35,2
	0,03	5,9	559,6	3,0
SEQ ID NO: 112	0,3	60,6	92,0	87,2
	0,1	25,5	397,5	31,1
	0,03	7,8	555,3	3,7

Para determinar la efectividad de los esquemas de codones con diferentes UTR, la edición del genoma se midió in vivo después de la administración de ARNm que codifican Cas9. Los ARN mensajeros, como se indica en la Tabla 29, se formularon como LNP con un ARN guía dirigido a TTR (G282; SEQ ID NO: 42). Las LNP se ensamblaron usando el procedimiento de flujo cruzado y contenían 50% de lípido A, 9% de DSPC, 38% de colesterol y 3% de PEG2k–DMG en una

relación molar de 50:38:9:3, respectivamente, y tenían una relación N:P de 6,0. Las LNP se purificaron usando filtros Amicon PD–10 (GE Healthcare) y se usaron a una concentración de 0,05 mg/ml (concentración de LNP). Ratones hembra CD–1 (n = 5 por grupo, excepto n = 4 para la SEQ ID NO: 43) se dosificaron i.v. a 0,1 mpk. 6 días después de la dosis, los animales se sacrificaron, se recogieron la sangre y el hígado y se midieron la TTR en suero y la edición hepática. La TABLA 29 y las Figuras 30A–B muestran resultados de edición in vivo (B) y los resultados de TTR séricos(A).

TABLA 29

Constructo de ARNm	% de edición	Desviación estándar	TTR sérico(µg/ml)	Desviación estándar
TSS	0	0	1274	214
SEQ ID NO:43	28	4	630	152
SEQ ID NO:176	35	8	482	138
SEQ ID NO:177	37	9	316	143
SEQ ID NO:178	42	6	524	192

12. Caracterización de los efectos de las estructuras de terminación

Los ARNm que codifican Cas9 y que contienen capuchones, UTR y colas de poliA como se indica en la Tabla 30 se formularon como LNP con un ARN guía dirigido a TTR (G282; SEQ ID NO: 42). Las LNP se ensamblaron usando el procedimiento

de flujo cruzado y contenían 50% de lípido A, 9% de DSPC, 38% de colesterol y 3% de PEG2k–DMG y tenían una relación molar de 50:38:9:3, respectivamente, y tenían una relación N:P de 6,0. Las LNP se purificaron usando filtros Amicon PD–10 (GE Healthcare) y se usaron a una concentración de 0,06 mg/ml (concentración de LNP). Ratones hembra CD–1 (n = 5 por grupo) se dosificaron i.v. a 0,1 o 0,3 mpk. 7 días después de la dosis, los animales se sacrificaron, se recogieron la sangre y el hígado y se midieron la TTR en suero y la edición hepática.

La Figura 31 y la Tabla 30 muestran ARNm con Capuchón 1 tiene ~10% edición promedio mayor que el ARNm con Capuchón 0 a 0,1 mpk de dosis. A 0,3 mpk de dosis, ARNm con UTR XBG tiene edición promedio ligeramente mayor que ARNm con UTR HSD, con la excepción del capuchón enzimático 0. Los resultados de TTR sérica se muestran en la **Figura 32** (los resultados de TTR sérica expresados en µg/ml y % de TSS control, respectivamente); **Figura 31** (edición hepática); y Tabla 30.

Tabla 30. Resultaos de TTR en suero y edición hepática para los estudios de terminación in vivo

constructo de ARNm	**Tipo de capu-chón**	**Capuchón**	**5' UTR**	**Dosis**	**Edición promedio (%)**	**Desvia-ción estándar**
SEQ ID NO. 43	Capuchón 0	ARCA	HSD	0,1 mpk	21,76	11,61
SEQ ID NO. 59	Capuchón 0	ARCA	XBG	0,1 mpk	22,9	5,53
SEQ ID NO. 59	Capuchón 0	Capuchón enzimático 0	XBG	0,1 mpk	17,98	7,04

SEQ ID NO. 59	Capuchón 1	Capuchón enzimático 1	XBG	0,1 mpk	31,03	6,4
SEQ ID NO. 60	Capuchón 1	Capuchón limpio 113	XBG	0,1 mpk	31,08	8,67
SEQ ID NO. 60	Capuchón 1	Capuchón limpio 413	XBG	0,1 mpk	32,78	2,05
SEQ ID NO. 43	Capuchón 0	ARCA	HSD	0,3 mpk	52,28	5,14
SEQ ID NO. 59	Capuchón 0	ARCA	XBG	0,3 mpk	59,56	4,57
SEQ ID NO. 59	Capuchón 0	Capuchón enzimático 0	XBG	0,3 mpk	54,93	10,22
SEQ ID NO. 59	Capuchón 1	Capuchón enzimático 1	XBG	0,3 mpk	63,2	0,28
SEQ ID NO. 60	Capuchón 1	Capuchón limpio 113	XBG	0,3 mpk	61,28	4,76
SEQ ID NO. 60	Capuchón 1	Capuchón limpio 413	XBG	0,3 mpk	60,56	3,97

13. Caracterización de las señales de localización nuclear

Las secuencias de Cas9 que utilizan varias señales de localización nuclear (NLS) se diseñaron y analizaron para determinar la eficacia. Se seleccionaron once NLS no canónicos de variadas concentraciones entre las identificados por Kosugi et al. (2009) *Journal of Biological Chemistry*, 284 (1), 478–485, como se muestra en la Tabla 31. Estas secuencias de aminoácidos se añadieron al extremo terminal carboxi de la secuencia de aminoácidos de Cas9 (SEQ ID NO:13). La secuencia de control codifica la SEQ ID NO. 4.

Tabla 31

Designación NLS	Secuencia de aminoácidos de NLS	Secuencia codificadora NLS	SEQ ID NOs. (aminoácidos NLS, NLS CDS, ORF CDS)
SV40	PKKKRKV	CCGAAGAAGAAGAGAAAGGTC	78, 92, 4
NLSl	LAAKRSRTT	CTGGCAGCAAAGAGAAGCAGA ACAACA	79, 93, 130
NLS2	QAAKRSRTT	CAGGCAGCAAAGAGAAGCAGAACAACA	80, 94, 131
NLS3	PAPAKRERTT	CCGGCACCGGCAAAGAGAGAAAGAACAACA	81, 95, 132
NLS4	QAAKRPRTT	CAGGCAGCAAAGAGACCGAGAACAACA	82, 96, 133
NLS5	RAAKRPRTT	AGAGCAGCAAAGAGACCGAGAACAACA	83, 97, 134
NLS6	AAAKRSWSMAA	GCAGCAGCAAAGAGAAGCTGG AGCATGGCAGCA	84, 98, 135
NLS7	AAAKRVWSMAF	GCAGCAGCAAAGAGAGTCTGGAGCATGGCATTC	85, 99, 136
NLS8	AAAKRSWSMAF	GCAGCAGCAAAGAGAAGCTGGAGCATGGCATTC	86, 100, 137
NLS9	AAAKRKYFAA	GCAGCAGCAAAGAGAAAGTACTTCGCAGCA	87, 101, 138
NLS10	RAAKRKAFAA	AGAGCAGCAAAGAGAAAGGC	88, 102, 139

		ATTCGCAGCA	
NLS11	RAAKRKYFAV	AGAGCAGCAAAGAGAAAGTAC TTCGCAGTC	89, 103, 140

Los ARNm que codifican Cas9 con NLS como se indica en la Tabla 31 se formularon como LNP con un ARN guía dirigido a TTR (G282; SEQ ID NO: 42). Las LNP se ensamblaron usando el procedimiento de flujo cruzado y contenían 50% de lípido A, 9% de DSPC, 38% de colesterol y 3% de PEG2k–DMG en una relación molar de 50:38:9:3, respectivamente, y tenían una relación N:P de 6,0. Las LNP se purificaron usando filtros Amicon PD–10 (GE Healthcare) y se usaron a una concentración de aproximadamente 0,07 mg/ml (concentración de LNP). Ratones hembra CD–1 (n = 5 por grupo) se dosificaron i.v. a 0,1. 7 días después de la dosis, los animales se sacrificaron, se recogieron la sangre y el hígado y se midieron la TTR en suero y la edición hepática. Los resultados se muestran en la Tabla 32 y la Figura 33. Ver Tabla 31 para la SEQ ID NOs correspondiente a las NLS enumeradas en la Tabla 32.

Tabla 32 – Edición hepática con diferentes señales de localización nuclear

NLS	Clase de NLS	Intensidad de NLS	%Edición 0,1 MPK	STDEV
SV40	n/a	n/a	14,67	4,17
NLS1	2	3	3,76	1,61
NLS2	2	4	5,86	1,69
NLS3	2	5	2,50	1,82
NLS4	2	6	27,38	11,98
NLS5	2	9	27,80	2,37
NLS6	3	1	2,20	0,82

NLS7	3	6	7,90	0,42
NLS8	3	10	25,52	15,75
NLS9	4	2	3,26	1,65
NLS10	4	5	0,23	0,04
NLS11	4	8	21,02	4,9

El NLS5 mostró un aumento estadísticamente significativo respecto de NLS SV40 (ANOVA de una vía, p = 0,006). NLS4 y NLS8 exhibieron una posible tendencia hacia un aumento de edición en comparación con la NLS SV40, pero la diferencia en este experimento no fue estadísticamente significativa. Las Figuras 34A–B muestran los niveles séricos de TTR después de la administración de variantes de señal de localización nuclear. Kosugi et al. (2009), *supra,* tasa de actividad de los NLS ("Intensidad NLS" en la Tabla 32) para el grado de localización nuclear, con un 10 como exclusivamente nuclear y un 1 como difuso en toda la célula. La actividad de NLS según se calificó en este documento se correlaciona positivamente con la eficiencia de edición, como se muestra en la Figura 35.

14. Caracterización de efectos de UTR in vitro

La Tabla 33 y la Figura 36 muestran la expresión de Cas9 de los transcriptos con diferentes 5’ UTR. Todos los constructos usaron 3 'UTR de albúmina humana. El ARN mensajero se produjo para cada constructo por IVT. El ARN mensajero para la SEQ ID NO:179 se produjo usando un plásmido linealizado, y todos los demás se generaron usando un producto de PCR como molde. Se transfectaron células HepG2 con 100 ng de cada ARNm de Cas9 y guía (G502; SEQ ID NO: 70) dirigidos a la concentración final de transtiretina (TTR) 25 nM usando el reactivo de transfección Lipofectamine ™ MessengerMAX ™ (ThermoFisher). Seis horas después de la transfección, las células se lisaron mediante el ensayo lítico Nano–

Glo® HiBiT (Promega). Los niveles de proteína Cas9 se determinaron mediante el uso del sistema de detección extracelular HiBiT Nano–Glo® Nano–Glo® (Promega, Cat. N2420). La Tabla 33 y la Figura 36 muestran la expresión de Cas9 de los transcriptos con diferentes 5' UTR.

TABLA 33: Expresión de Cas9

constructo de ARNm SEQ ID NO	**5' UTR**	**Moléculas Cas9 (10^7)**	**Desviación estándar (10^7)**
179	HSD	447	61
180	CMV–1	723	39
181	CMV–2	672	158
182	CMV–3	662	117
183	HBA	488	101
184	HBB	595	124
185	XBG	813	62

15. Administración de LNP a primates no humanos

Se realizaron tres estudios con formulaciones de LNP preparadas como se describió anteriormente usando el proceso X–flow/TFF. Las cantidades y cargas molares particulares se proporcionan en las **Tablas 34–36**. Cada formulación que contiene ARNm Cas9 y ARN guía (ARNg) tenía una relación de ARNm:ARNg de 1:1 en peso. Las dosis de LNP (en mg/kg, contenido total de ARN), la vía de administración y si los animales recibieron pretratamiento con dexametasona se

indican en las Tablas. Para los animales que reciben pretratamiento con dexametasona (Dex), Dex se administró a 2 mg/kg mediante inyección en bolo IV, 1 h antes de la administración de LNP o vehículo.

Para el análisis de química de sangre, la sangre se extrajo de los animales a veces como se indica en las Tablas para cada factor medido. La inducción de citoquinas se midió en los NHP pre y postratados. Se recogió un mínimo de 0,5 ml de sangre completa de una vena periférica de animales restringidos y conscientes en un tubo separador de suero de 4 ml. La sangre se dejó coagular durante un mínimo de 30 minutos a temperatura ambiente, seguido de centrifugación a 2000 xg durante 15 minutos. El suero se alicuotó en 2 microtubos de polipropileno de 120 µl cada uno y se almacenó a una temperatura de –60 a –86 ºC hasta su análisis. Para el análisis se usó un kit personalizado de citoquina U–Plex de primate no humano de Meso Scale Discovery (MSD). Los siguientes parámetros se incluyeron en el análisis: INF–g, IL–1b, IL–2, IL–4, IL–6, IL–8, IL–10, IL–12p40, MCP–1 y TNF–a, con centro en IL–6 y MCP–1. Los reactivos y estándares del kit se prepararon como se indica en el protocolo del fabricante. Se utilizó suero NHP puro. Las placas se ejecutaron en un MSD Sector Imager 6000 con análisis realizado con el software de mesada MSD Discovery versión 4012.

Los niveles de complemento se midieron en animales pre y postratados mediante inmunoensayo enzimático. Se recogió un volumen de 0,5 ml de sangre entera de una vena periférica de animales restringidos y conscientes en un tubo k_2EDTA de 0,5 ml. La sangre se centrifugó a 2000 xg durante 15 minutos. El plasma se alicuotó en 2 microtubos de polipropileno de 120 uL cada uno y se almacenó a una temperatura de –60 a –86 untilC hasta el análisis. Se utilizó un kit de EIA Quidel MicroVue Complement Plus (C3a–Cat No. A031) o (Bb–Cat No. A027) para el análisis. Los reactivos y estándares del kit se prepararon como se indica en el protocolo del fabricante. Las placas se ejecutaron en un MSD Sector Imager

6000 a densidad óptica a 450 nm. Los resultados se analizaron utilizando un ajuste de curva de 4 parámetros.

Los datos para la inducción de citoquinas y la activación del complemento se proporcionan en las Tablas a continuación. "BLQ" significa por debajo del límite de cuantificación.

Tabla 34, Estudio 1

Grupo de tratamiento	Relaciones molares (lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k–DMG, respectivamente	N:P	Cargo	Tamaño de la muestra (n)	Ruta	Nivel de dosis, contenido de ARN total (mg/kg)	Dex
(1) TSS (vehículo)	n/a	n/a	n/a	3	IV – infusión	n/a	no
(2) LNP699 G502	45/44/9/2	4,5	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:48); G000502	3	IV – infusión	3	no
(3) LNP688 G506	45/44/9/2	4,5	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:48); G000506	3	IV – infusión	3	no
(4) LNP689 G509	45/44/9/2	4,5	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:48); G000509	3	IV – infusión	3	no
(5) LNP690 G510	45/44/9/2	4,5	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:48); G000510	3	IV – infusión	3	no

Tabla 35, estudio 2

Grupo de tratamiento	Relaciones molares (lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k–DMG, respectivamente	N:P	Cargo	Tamaño de la muestra (n)	Ruta	Nivel de dosis, contenido de ARN total (mg/kg)	Dex
(1) TSS	n/a	n/a		1	IV–	n/a	yes

(vehículo)					bolo		
(2) TSS (vehículo)	n/a	n/a		1	IV–bolo	n/a	no
(3) LNP898 G502	45/44/9/2	4,5	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:48); G000502	1	IV – infusión	3	yes
(4) LNP898 G502	45/44/9/2	4,5	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:48); G000502	1	IV – infusión	3	no
(5) LNP897 G502	45/43/9/3	4,5	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:48); G000502	1	IV–bolo	3	yes
(6) LNP897 G502	45/43/9/3	4,5	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:48); G000502	1	IV–bolo	3	no
(7) LNP897 G502	45/43/9/3	4,5	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:48); G000502	1	IV – infusión	3	yes
(8) LNP897 G502	45/43/9/3	4,5	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:48); G000502	1	IV – infusión	3	no
(9) LNP916 GFP	45/43/9/3	4,5	eGFP ARNm (SEQ ID NO:73)	1	IV – infusión	6	yes
(10) LNP916 GFP	45/43/9/3	4,5	eGFP ARNm (SEQ ID NO:73	1	IV – infusión	6	no

Tabla 36, estudio 3

Grupo de tratamiento	Relaciones molares (lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k–DMG, respectivamente	N:P	Cargo	Tamaño de la muestra (n)	Ruta	Nivel de dosis, contenido de ARN total (mg/kg)	Dex
(1) TSS	n/a	n/a	n/a	3	IV–bolo	n/a	no
(2) LNP1021 G502	50/38/9/3	6	Cas9 ARNm	3	IV–bolo	1	no

			(SEQ ID NO:43); G000502				
(3) LNP1021 G502	50/38/9/4	6	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:43); G000502	1	IV–bolo	1	yes
(4) LNP1022 G502	55/33/9/3	6	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:43); G000502	3	IV–bolo	1	no
(5) LNP1023 G502	45/43/9/3	4,5	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:43); G000502	3	IV–bolo	3	no
(6) LNP1024 G509	50/38/9/3	6	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:43); G000509	3	IV–bolo	1	no
(7) LNP1024 G509	50/38/9/4	6	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:43); G000509	1	IV–bolo	1	yes
(8) LNP1025 G509	55/33/9/3	6	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:43); G000509	3	IV–bolo	1	no
(9) LNP1021 G502	50/38/9/3	6	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:43); G000502	1	IV–bolo	3	no
(10) LNP1022 G502	50/38/9/3	6	Cas9 ARNm (SEQ ID NO:43); G000502	1	IV–bolo	3	no

Tabla 37. Mediciones de IL–6 del estudio 1

Grupo de tratamiento	Presangrado	6 horas	24 horas
(1) TSS (vehículo)	5,71 ± 2,70	29,1 ± 20,37	7,05 ± 3,49
(2) LNP699 G502	9,73 ± 8,34	1296,41 ± 664,71	5,43 ± 7,68
(3) LNP688 G506	16,83 ± 4,08	1749,47 ± 1727,22	38,57 ± 39,39

(4) LNP689 G509	18,11 ± 11,51	1353,49 ± 766,66	32,42 ± 18,40
(5) LNP690 G510	13,95 ± 1,85	11838 ± 17161,74	90,07 ± 96,02

Tabla 38. Mediciones de MCP–1 del estudio 1

Grupo de tratamiento	Presangrado	6 hora	24 hora
(1) TSS (vehículo)	810,49 ± 178,27	1351,16 ± 397,31	745,25 ± 56,49
(2) LNP699 G502	842,31 ± 350,65	19298,49 ± 11981,14	2092,89 ± 171,21
(3) LNP688 G506	1190,79 ± 383,64	13500,17 ± 12691,60	1414,71 ± 422,43
(4) LNP689 G509	838,63 ± 284,42	14427,7 ± 8715,48	1590 ± 813,23
(5) LNP690 G510	785,32 ± 108,97	52557,24 ± 48034,68	6319,77 ± 983,37

Tabla 39. mediciones del complemento C3a del estudio 1

Grupo de tratamiento	Presangrado	6 hora	día 7
(1) TSS (vehículo)	23,9 ± 11,95	25,51 ± 14,79	30,67 ± 18,36
(2) LNP699 G502	32,36 ± 11,29	94,33 ± 58,45	38,50 ± 12,69
(3) LNP688 G506	22,30 ± 1,73	127,00 ± 22,34	37,80 ± 6,86
(4) LNP689 G509	35,83 ± 21,94	174,00 ± 44,51	50,83 ± 21,92
(5) LNP690 G510	36,30 ± 8,21	163,00 ± 40,60	42,50 ± 12,44

Tabla 40. Mediciones del complemento bb del estudio 1

Grupo de tratamiento	04–bb	Presangrado	6 hora	día 7
(1) TSS (vehículo)	Control	1,53 ± 0,19	3,37 ± 2,13	1,43 ± 0,71
(2) LNP699 G502	G502	1,45 ± 0,39	9,01 ± 5,28	1,57 ± 0,54
(3) LNP688 G506	G506	1,45 ± 0,78	11,78 ± 2,33	1,78 ± 0,84
(4) LNP689 G509	G509	1,95 ± 0,99	15,73 ± 2,23	2,83 ± 0,88
(5) LNP690 G510	G510	2,12 ± 0,44	13,57 ± 1,23	2,21 ± 0,72

Tabla 41. Mediciones de IL–6 del estudio 2

Grupo de tratamiento	Presangrado	90 min	6 hora	24 hora	día 7
(1) TSS (vehículo)	1,77	11,46	4,2	2,76	3,01
(2) TSS (vehículo)	5,23	18,11	20,36	13,2	6,36
(3) LNP898 G502	2,02	1305,75	1138,22	383,32	16,02
(4) LNP898 G502	2,34	37,19	91,59	14,11	3,07
(5) LNP897 G502	2,1	55,79	6,89	2,26	2,01
(6) LNP897 G502	6,8	10,1	44,72	5,4	2,01
(7) LNP897 G502	1,97	44,87	32,61	2,97	1,11
(8) LNP897 G502	3,14	37,68	73,41	8,58	2,22
(9) LNP916 GFP	1,6	BLQ	95,32	27,58	BLQ
(10) LNP916 GFP	2,43	BLQ	883,01	66,71	BLQ

Tabla 42. Mediciones de MCP–1 del estudio 2

Grupo de tratamiento	Presangrado	90 min	6 hora	24 hora	día 7
(1) TSS (vehículo)	312,12	197,24	145,36	177,02	403,82
(2) TSS	232,44	175,08	187,72	136,64	325,69

(vehículo)					
(3) LNP898 G502	249,1	2183,5	1814,64	1887,41	372,38
(4) LNP898 G502	349,51	430,49	5635,55	953,05	236,6
(5) LNP897 G502	492,3	989,98	409,08	302,97	506,82
(6) LNP897 G502	283,79	225,1	1141,08	484,59	259,46
(7) LNP897 G502	223,16	349,79	398,57	172,67	287,09
(8) LNP897 G502	584,42	853,51	3880,81	1588,46	692,99
(9) LNP916 GFP	325,84	BLQ	1189,97	2279,82	BLQ
(10) LNP916 GFP	175,47	BLQ	3284,16	2023,53	BLQ

Tabla 43. Mediciones del complemento C3a del estudio 2

Grupo de tratamiento	Presangrado	90 min	6 hora	24 hora	día 7
(1) TSS (vehículo)	0,087	0,096	0,048	0,033	0,038
(2) TSS (vehículo)	0,369	0,311	0,146	0,1	0,106
(3) LNP898 G502	0,087	0,953	0,647	0,277	0,065
(4) LNP898 G502	0,099	0,262	0,123	0,049	0,044
(5) LNP897 G502	0,067	0,479	0,209	0,036	0,036
(6) LNP897 G502	0,141	0,433	0,34	0,11	0,074
(7) LNP897 G502	0,1	0,345	0,396	0,096	0,127

(8) LNP897 G502	0,261	0,458	0,409	0,244	0,313
(9) LNP916 GFP	0,149	BLQ	0,714	0,382	BLQ
(10) LNP916 GFP	0,117	BLQ	0,752	0,723	BLQ

Tabla 44. Mediciones del complemento bb del estudio 2

Grupo de tratamiento	Presangrado	90 min	6 hora	24 hora	día 7
(1) TSS (vehículo)	0,087	0,096	0,048	0,033	0,038
(2) TSS (vehículo)	0,369	0,311	0,146	0,1	0,106
(3) LNP898 G502	0,087	0,953	0,647	0,277	0,065
(4) LNP898 G502	0,099	0,262	0,123	0,049	0,044
(5) LNP897 G502	0,067	0,479	0,209	0,036	0,036
(6) LNP897 G502	0,141	0,433	0,34	0,11	0,074
(7) LNP897 G502	0,1	0,345	0,396	0,096	0,127
(8) LNP897 G502	0,261	0,458	0,409	0,244	0,313
(9) LNP916 GFP	0,149	BLQ	0,714	0,382	BLQ
(10) LNP916 GFP	0,117	BLQ	0,752	0,723	BLQ

Tabla 45. Mediciones de IL–6 del estudio 3

Grupo de tratamiento	Presangrado	90 min	6 hora	24 hora	día 7
(1) TSS	1,89 ± 0,97	2,56 ± 1,41	0,90 ± 0,71	BLQ	0,08
(2) LNP1021 G502	210 ± 0,35	7,44 ± 5,16	6,94 ± 8,45	1,07 ± 1,11	1,76 ± 0,98
(3) LNP1021 G502	0,79	2,96	4,25	0,67	0,27

(4) LNP1022 G502	1,54 ± 1,32	20,42 ± 31,60	13,94 ± 10,10	0,98 ± 0,41	2,04 ± 0,65
(5) LNP1023 G502	2,92 ± 1,68	6,28 ± 7,18	6,06 ± 2,31	3,62 ± 4,68	2,00 ± 1,21
(6) LNP1024 G509	1,43 ± 0,62	2,64 ± 1,92	7,72 ± 11,96	0,45 ± 0,19	0,88 ± 0,79
(7) LNP1024 G509	1,35 ± 0,74	2,64 ± 2,35	1,71 ± 0,41	0,36 ± 0,58	0,51 ± 0,32
(8) LNP1025 G509	1,64	2,68	25,65	0,58	2,00
(9) LNP1021 G502	0,56	6,15	28,80	0,85	0,61
(10) LNP1022 G502	1,76	8,66	2907,86	11,26	1,72

Tabla 46. Mediciones de MCP–1 del estudio 2

Grupo de tratamiento	Presangrado	90 min	6 hora	24 hora	día 7
(1) TSS	204,01 ± 46,39	197,62 ± 19,54	310,84 ± 45,87	179,07 ± 20,77	234,61 ± 71,79
(2) LNP1021 G502	303,67 ± 36,37	337,63 ± 195,18	755,20 ± 581,45	339,75 ± 206,20	214,82 ± 40,81
(3) LNP1021 G502	229,30	358,10	3182,00	413,56	178,30
(4) LNP1022 G502	393,63 ± 187,81	467,72 ± 221,61	1852,94 ± 2199,66	497,12 ± 412,30	382,19 ± 67,27
(5) LNP1023 G502	213,72 ± 8,85	196,18 ± 62,81	1722,18 ± 1413,90	197,83 ± 74,01	156,16 ± 18,87
(6) LNP1024 G509	237,76 ± 96,36	210,37 ± 95,17	468,53 ± 250,42	22,32 ± 69,06	141,20 ± 71,90
(7) LNP1024 G509	207,36	183,07	1885,66	235,70	163,11
(8) LNP1025 G509	259,57 ± 112,98	299,21 ± 304,89	1193,10 ± 974,04	258,82 ± 88,53	219,86 ± 219,86

(9) LNP1021 G502	199,29	286,04	2001,23	197,57	196,44
(10) LNP1022 G502	305,81	970,65	7039,06	8379,05	203,47

Tabla 47. Mediciones del complemento C3a del estudio 3

Grupo de tratamiento	Presangrado	90 min	6 hora	24 hora	día 7
(1) TSS	42,47 ± 10,30	55,40 ± 13,58	29,30 ± 14,46	41,70 ± 23,65	27,43 ± 12,43
(2) LNP1021 G502	34,37 ± 0,50	86,50 ± 3,66	90,07 ± 4,85	56,60 ± 2,25	32,53 ± 0,93
(3) LNP1021 G502	34,30	128,00	93,30	33,40	28,20
(4) LNP1022 G502	41,55 ± 13,51	151,37 ± 109,98	82,00 ± 31,82	45,57 ± 18,58	32,77 ± 6,45
(5) LNP1023 G502	31,67 ± 3,19	74,40 ± 22,08	74,13 ± 48,61	33,83 ± 9,75	27,70 ± 8,05
(6) LNP1024 G509	56,60 ± 25,61	100,37 ± 77,95	74,73 ± 70,15	55,20 ± 48,34	49,97 ± 39,94
(7)	33,80	33,90	33,70	26,10	20,90

LNP1024 G509					
(8) LNP1025 G509	39,90 ± 13,01	75,73 ± 1,38	46,13 ± 30,56	25,00 ± 3,80	23,90 ± 7,18
(9) LNP1021 G502	34	85,70	133,00	62,00	25,50
(10) LNP1022 G502	29,8	68,10	113,00	71,70	23,30

Tabla 48. Mediciones del complemento bb del estudio 3

Grupo de tratamiento	Presangrado	90 min	6 hora	24 hora	día 7
(1) TSS	1,46 ± 0,70	2,18 ± 0,78	1,96 ± 0,64	0,945 ± 0,15	1,34 ± 0,50
(2) LNP1021 G502	1,77 ± 0,60	6,51 ± 3,66	11,00 ± 4,85	3,59 ± 2,25	2,07 ± 0,93
(3) LNP1021 G502	1,24	2,90	11,50	2,97	1,24
(4) LNP1022 G502	1,52 ± 0,34	5,67 ± 2,28	10,2 ± 3,36	3,66 ± 1,68	1,84 ± 0,24
(5) LNP1023	1,65 ± 0,94	4,4 ± 1	7,68 ± 4,67	2,64 ± 1,18	2,08 ± 1,32

G502					
(6) LNP1024 G509	1,61 ± 0,13	4,52 ± 1,81	4,50 ± 3,22	1,63 ± 0,84	1,63 ± 0,32
(7) LNP1024 G509	0,96	2,99	2,64	1,13	1,07
(8) LNP1025 G509	1,37 ± 0,17	4,9 ± 4,51	3,79 ± 3,84	1,66 ± 1,43	1,35 ± 0,44
(9) LNP1021 G502	1,41	5,67	11,50	4,64	1,38
(10) LNP1022 G502	1,28	5,22	14,10	5,64	1,87

16. Comparación de la expresión de Cas9 de diferente ARNm en hígado murino

La expresión de Cas9 se midió in vivo después de la administración de diferentes ARNm que codifican Cas9. Los ARN mensajeros, como se indica en la Tabla 49, se formularon como LNP con un sgARN de ratón dirigido al gen TTR de ratón (relación de peso de sgARN:ARNm de 1:2). Los LNP se ensamblaron utilizando el procedimiento de flujo cruzado con 50% de lípido A, 9% de DSPC, 38% de colesterol y 3% de PEG2k–DMG y una relación N: P de 6,0. Los LNP se purificaron utilizando Sartocon Slice 200 (Sartorius) y se usaron a una concentración de 1,53 mg/ml (concentración de ARN). Las formulaciones de LNP

se analizaron para determinar el tamaño de partícula promedio, la polidispersidad (pdi), el contenido total de ARN y la eficiencia de encapsulación del ARN como se describió anteriormente (datos no mostrados).

Los ratones hembra CD–1 (n = 5 por grupo) se dosificaron i.v. a 0,3 mpk. En 1 hora, 3 horas y 6 horas después de la dosis, se sacrificaron los animales, se recogió el tejido hepático y se midieron los niveles de proteína Cas9 mediante ELISA de MSD como se describe en el Ejemplo 11. La Tabla 49 muestra los niveles de proteína Cas9. En cada momento, se detecta más proteína Cas9 en animales que fueron tratados con la SEQ ID NO: 177 que en animales tratados con la SEQ ID NO: 43.

Tabla 49

ARNm	Punto temporal (horas)	ng de Cas9/g de hígado	Desviación estándar	Tamaño de la muestra (n)
TSS		0	28	5
SEQ ID NO: 43	1	429	164	5
SEQ ID NO: 177	1	1872	907	5
SEQ ID NO: 43	3	1167	814	5
SEQ ID NO: 177	3	2233	929	5
SEQ ID NO: 43	6	535	297	5
SEQ ID NO: 177	6	1663	443	5

17. Comparación de la respuesta a la dosis de diferente ARNm

Se compararon las curvas de respuesta a la dosis de diferentes ARNm que codifican Cas9 in vivo. Las formulaciones de LNP se prepararon con los ARNm de SEQ ID No. 43 y SEQ ID No. 177 y sg502 (SEQ ID NO: 70; G502), formulando como se describe en el Ejemplo 16. Los componentes lipídicos de las nanopartículas se disolvieron en etanol al 100% con relación molar del componente lipídico de 50/9/38/3 (LP01/DSPC/colesterol/PEG–DMG). Los LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N: P) de aproximadamente 6 con la proporción de ARNg a ARNm a 1: 2 en peso. Las formulaciones de LNP se analizaron para determinar el tamaño de partícula promedio, la polidispersidad (pdi), el contenido total de ARN y la eficiencia de encapsulación del ARN como se describió anteriormente (datos no mostrados).

Para la caracterización in vivo, los ratones hembra CD–1 (n = 5 por grupo) se administraron por vía intravenosa a 0,03, 0,1 o 0,3 mg de ARN total (mg de ARN guía + mg de ARNm) por kg (n = 5 por grupo). A los siete días posteriores a la dosis, se sacrificaron los animales, se recogieron la sangre y el hígado, y se midieron la TTR y la edición del hígado en suero, tal como se describe en el Ejemplo 1. Los animales de control negativo recibieron la dosis del vehículo TSS. Los datos de edición se proporcionan en la Tabla 50, a continuación. Para SEQ ID NO: 43, se proporciona el promedio de 8 experimentos in vivo, cada uno con 5 animales. Para SEQ ID NO: 177, se proporciona el promedio de un experimento in vivo, con 5 animales en cada dosis. En cada dosis, el % de edición es mayor en los animales tratados con la SEQ ID NO: 177 que en los animales tratados con la SEQ ID NO: 43.

Tabla 50

	% de edición		
ARNm	0,3 mg/kg de dosis promedio (rango)	0.1 mg/kg promedio (rango)	0,03 mg/kg promedio (rango)
SEQ ID NO: 43	65,8% (62,2–71,2%)	40,6% (29,2–55,6%)	11,4% (6,2–20,1%)
SEQ ID NO: 177	71,2%	58,9%	29,3%

Tabla de secuencia

La siguiente tabla de secuencias proporciona una lista de secuencias descritas en el presente documento. Se entiende que si se hace referencia a una secuencia de ADN (que comprende Ts) con respecto a un ARN, entonces Ts debe reemplazarse con Nosotros (que puede modificarse o modificarse según el contexto), y viceversa.

Descripción	Secuencia	SEQ ID No.
Secuencia codificadora de Cas9 ADN 2	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGA AGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACA TCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAG ACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGAC AAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGA GCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGC ACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGAC GACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCG ACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACT GCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGAC GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACA GAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAG ACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTG GCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAG CAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGA ATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAG GCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACA GCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCT GGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAG ACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCA ACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCA CGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCA GGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA TCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAA GGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGA AGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACG ACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAA	1

	GAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAA CTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACA CAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCA GTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTAC CCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGG CAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCT GATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTC AACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAA AGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAA GCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGC TGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAA GCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGC GAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAAC AGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAG ATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTG GGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAG	
Secuencia codificadora de Cas9 ADN 1	ATGGATAAGAAGTACTCAATCGGGCTGGATATCGGAACTAATTCCGTGGGTTGGGCAGTGATCACGGATGAATACAAAGTGCCGTCCAAGA AGTTCAAGGTCCTGGGGAACACCGATAGACACAGCATCAAGAAAAATCTCATCGGAGCCCTGCTGTTTGACTCCGGCGAAACCGCAGAAGC GACCCGGCTCAAACGTACCGCGAGGCGACGCTACACCCGGCGGAAGAATCGCATCTGCTATCTGCAAGAGATCTTTTCGAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACCGCCTGGAAGAATCTTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCATGAACGGCATCCTATCTTTGGAAACA TCGTCGACGAAGTGGCGTACCACGAAAAGTACCCGACCATCTACCATCTGCGGAAGAAGTTGGTTGACTCAACTGACAAGGCCGACCTCAG ATTGATCTACTTGGCCCTCGCCCATATGATCAAATTCCGCGGACACTTCCTGATCGAAGGCGATCTGAACCCTGATAACTCCGACGTGGAT AAGCTTTTCATTCAACTGGTGCAGACCTACAACCAACTGTTCGAAGAAAACCCAATCAATGCTAGCGGCGTCGATGCCAAGGCCATCCTGT CCGCCCGGCTGTCGAAGTCGCGGCGCCTCGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAGAAAAAGAACGGACTTTTCGGCAACTTGATCGC TCTCTCACTGGGACTCACTCCCAATTTCAAGTCCAATTTTGACCTGGCCGAGGACGCGAAGCTGCAACTCTCAAAGGACACCTACGACGAC GACTTGGACAATTTGCTGGCACAAATTGGCGATCAGTACGCGGATCTGTTCCTTGCCGCTAAGAACCTTTCGGACGCAATCTTGCTGTCCG ATATCCTGCGCGTGAACACCGAAATAACCAAAGCGCCGCTTAGCGCCTCGATGATTAAGCGGTACGACGAGCATCACCAGGATCTCACGCT GCTCAAAGCGCTCGTGAGACAGCAACTGCCTGAAAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAATGGGTACGCAGGGTACATCGAT GGAGGCGCTAGCCAGGAAGAGTTCTATAAGTTCATCAAGCCAATCCTGGAAAAGATGGACGGAACCGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACA GGGAGGATCTGCTCCGGAAACAGAGAACCTTTGACAACGGATCCATTCCCCACCAGATCCATCTGGGTGAGCTGCACGCCATCTTGCGGCG CCAGGAGGACTTTTACCCATTCCTCAAGGACAACCGGGAAAAGATCGAGAAAATTCTGACGTTCCGCATCCCGTATTACGTGGGCCCACTG GCGCGCGGCAATTCGCGCTTCGCGTGGATGACTAGAAAATCAGAGGAAACCATCACTCCTTGGAATTTCGAGGAAGTTGTGGATAAGGGAG CTTCGGCACAAAGCTTCATCGAACGAATGACCAACTTCGACAAGAATCTCCCAAACGAGAAGGTGCTTCCTAAGCACAGCCTCCTTTACGA ATACTTCACTGTCTACAACGAACTGACTAAAGTGAAATACGTTACTGAAGGAATGAGGAAGCCGGCCTTTCTGTCCGGAGAACAGAAGAAA	2

	GCAATTGTCGATCTGCTGTTCAAGACCAACCGCAAGGTGACCGTCAAGCAGCTTAAAGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGTTTCGACT CAGTGGAAATCAGCGGGGTGGAGGACAGATTCAACGCTTCGCTGGGAACCTATCATGATCTCCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCT TGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAAGATATCGTCCTGACCTTGACCCTTTTCGAGGATCGCGAGATGATCGAGGAGAGGCTTAAG ACCTACGCTCATCTCTTCGACGATAAGGTCATGAAACAACTCAAGCGCCGCCGGTACACTGGTTGGGGCCGCCTCTCCCGCAAGCTGATCA ACGGTATTCGCGATAAACAGAGCGGTAAAACTATCCTGGATTTCCTCAAATCGGATGGCTTCGCTAATCGTAACTTCATGCAATTGATCCA CGACGACAGCCTGACCTTTAAGGAGGACATCCAAAAAGCACAAGTGTCCGGACAGGGAGACTCACTCCATGAACACATCGCGAATCTGGCC GGTTCGCCGGCGATTAAGAAGGGAATTCTGCAAACTGTGAAGGTGGTCGACGAGCTGGTGAAGGTCATGGGACGGCACAAACCGGAGAATA TCGTGATTGAAATGGCCCGAGAAAACCAGACTACCCAGAAGGGCCAGAAAAACTCCCGCGAAAGGATGAAGCGGATCGAAGAAGGAATCAA GGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAAGAGCACCCGGTGGAAAACACGCAGCTGCAGAACGAGAAGCTCTACCTGTACTATTTGCAAAATGGA CGGGACATGTACGTGGACCAAGAGCTGGACATCAATCGGTTGTCTGATTACGACGTGGACCACATCGTTCCACAGTCCTTTCTGAAGGATG ACTCGATCGATAACAAGGTGTTGACTCGCAGCGACAAGAACAGAGGGAAGTCAGATAATGTGCCATCGGAGGAGGTCGTGAAGAAGATGAA GAATTACTGGCGGCAGCTCCTGAATGCGAAGCTGATTACCCAGAGAAAGTTTGACAATCTCACTAAAGCCGAGCGCGGCGGACTCTCAGAG CTGGATAAGGCTGGATTCATCAAACGGCAGCTGGTCGAGACTCGGCAGATTACCAAGCACGTGGCGCAGATCTTGGACTCCCGCATGAACA CTAAATACGACGAGAACGATAAGCTCATCCGGGAAGTGAAGGTGATTACCCTGAAAAGCAAACTTGTGTCGGACTTTCGGAAGGACTTTCA GTTTTACAAAGTGAGAGAAATCAACAACTACCATCACGCGCATGACGCATACCTCAACGCTGTGGTCGGTACCGCCCTGATCAAAAAGTAC CCTAAACTTGAATCGGAGTTTGTGTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTGAGGAAGATGATAGCCAAGTCCGAACAGGAAATCGGGAAAG CAACTGCGAAATACTTCTTTTACTCAAACATCATGAACTTTTTCAAGACTGAAATTACGCTGGCCAATGGAGAAATCAGGAAGAGGCCACT GATCGAAACTAACGGAGAAACGGGCGAAATCGTGTGGGACAAGGGCAGGGACTTCGCAACTGTTCGCAAAGTGCTCTCTATGCCGCAAGTC AATATTGTGAAGAAAACCGAAGTGCAAACCGGCGGATTTTCAAAGGAATCGATCCTCCCAAAGAGAAATAGCGACAAGCTCATTGCACGCA AGAAAGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGATTCGCCGACTGTCGCATACTCCGTCCTCGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGAAA GAGCAAAAAGCTCAAATCCGTCAAAGAGCTGCTGGGGATTACCATCATGGAACGATCCTCGTTCGAGAAGAACCCGATTGATTTCCTCGAG GCGAAGGGTTACAAGGAGGTGAAGAAGGATCTGATCATCAAACTCCCCAAGTACTCACTGTTCGAACTGGAAAATGGTCGGAAGCGCATGC TGGCTTCGGCCGGAGAACTCCAAAAAGGAAATGAGCTGGCCTTGCCTAGCAAGTACGTCAACTTCCTCTATCTTGCTTCGCACTACGAAAA ACTCAAAGGGTCACCGGAAGATAACGAACAGAAGCAGCTTTTCGTGGAGCAGCACAAGCATTATCTGGATGAAATCATCGAACAAATCTCC GAGTTTTCAAAGCGCGTGATCCTCGCCGACGCCAACCTCGACAAAGTCCTGTCGGCCTACAATAAGCATAGAGATAAGCCGATCAGAGAAC AGGCCGAGAACATTATCCACTTGTTCACCCTGACTAACCTGGGAGCCCCAGCCGCCTTCAAGTACTTCGATACTACTATCGATCGCAAAAG ATACACGTCCACCAAGGAAGTTCTGGACGCGACCCTGATCCACCAAAGCATCACTGGACTCTACGAAACTAGGATCGATCTGTCGCAGCTG GGTGGCGATGGCGGTGGATCTCCGAAAAAGAAGAGAAAGGTGTAATGA	
Secuencia de aminoácidos Cas9	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMA KVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVD KLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDD DLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKK	3

	AIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLK TYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA GSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNG RDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSE LDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKY PKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQV NIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLE AKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQIS EFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQL GGDGGGSPKKKRKV	
marco de lectura abierto de Cas9 ARNm (ORF) 2	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGACAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGA AGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCA AAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACA UCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAG ACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGAC AAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGA GCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGC ACUGAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGAC GACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCG ACAUCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACU GCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGAC GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACA GAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAG ACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUG GCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAG CAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAG GCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACA GCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCU GGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAG ACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCA ACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCA	4

	GGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA UCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAA GGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGA AGAGACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACG ACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAA GAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAA CUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACA CAAAGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCA GUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUAC CCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGG CAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCU GAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUC AACAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAA AGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAA GCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGC UGGCAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAA GCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGC GAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAG AUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUG GGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCUAG	
Cas9 ARNm ORF 1	AUGGAUAAGAAGUACUCAAUCGGGCUGGAUAUCGGAACUAAUUCCGUGGGUUGGGCAGUGAUCACGGAUGAAUACAAAGUGCCGUCCAAGA AGUUCAAGGUCCUGGGGAACACCGAUAGACACAGCAUCAAGAAAAAUCUCAUCGGAGCCCUGCUGUUUGACUCCGGCGAAACCGCAGAAGC GACCCGGCUCAAACGUACCGCGAGGCGACGCUACACCCGGCGGAAGAAUCGCAUCUGCUAUCUGCAAGAGAUCUUUUCGAACGAAAUGGCA AAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACCGCCUGGAAGAAUCUUUCCUGGUGGAGGAGGACAAGAAGCAUGAACGGCAUCCUAUCUUUGGAAACA UCGUCGACGAAGUGGCGUACCACGAAAAGUACCCGACCAUCUACCAUCUGCGGAAGAAGUUGGUUGACUCAACUGACAAGGCCGACCUCAG AUUGAUCUACUUGGCCCUCGCCCAUAUGAUCAAAUUCCGCGGACACUUCCUGAUCGAAGGCGAUCUGAACCCUGAUAACUCCGACGUGGAU AAGCUUUUCAUUCAACUGGUGCAGACCUACAACCAACUGUUCGAAGAAAACCCAAUCAAUGCUAGCGGCGUCGAUGCCAAGGCCAUCCUGU CCGCCCGGCUGUCGAAGUCGCGGCGCCUCGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAGAAAAAGAACGGACUUUUCGGCAACUUGAUCGC UCUCUCACUGGGACUCACUCCCAAUUUCAAGUCCAAUUUUGACCUGGCCGAGGACGCGAAGCUGCAACUCUCAAAGGACACCUACGACGAC GACUUGGACAAUUUGCUGGCACAAAUUGGCGAUCAGUACGCGGAUCUGUUCCUUGCCGCUAAGAACCUUUCGGACGCAAUCUUGCUGUCCG AUAUCCUGCGCGUGAACACCGAAAUAACCAAAGCGCCGCUUAGCGCCUCGAUGAUUAAGCGGUACGACGAGCAUCACCAGGAUCUCACGCU GCUCAAAGCGCUCGUGAGACAGCAACUGCCUGAAAAGUACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGUCCAAGAAUGGGUACGCAGGGUACAUCGAU	5

	GGAGGCGCUAGCCAGGAAGAGUUCUAUAAGUUCAUCAAGCCAAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACCGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACA GGGAGGAUCUGCUCCGGAAACAGAGAACCUUUGACAACGGAUCCAUUCCCCACCAGAUCCAUCUGGGUGAGCUGCACGCCAUCUUGCGGCG CCAGGAGGACUUUUACCCAUUCCUCAAGGACAACCGGGAAAAGAUCGAGAAAAUUCUGACGUUCCGCAUCCCGUAUUACGUGGGCCCACUG GCGCGCGGCAAUUCGCGCUUCGCGUGGAUGACUAGAAAAUCAGAGGAAACCAUCACUCCUUGGAAUUUCGAGGAAGUUGUGGAUAAGGGAG CUUCGGCACAAAGCUUCAUCGAACGAAUGACCAACUUCGACAAGAAUCUCCCAAACGAGAAGGUGCUUCCUAAGCACAGCCUCCUUUACGA AUACUUCACUGUCUACAACGAACUGACUAAAGUGAAAUACGUUACUGAAGGAAUGAGGAAGCCGGCCUUUCUGUCCGGAGAACAGAAGAAA GCAAUUGUCGAUCUGCUGUUCAAGACCAACCGCAAGGUGACCGUCAAGCAGCUUAAAGAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGUUUCGACU CAGUGGAAAUCAGCGGGGUGGAGGACAGAUUCAACGCUUCGCUGGGAACCUAUCAUGAUCUCCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCU UGACAACGAGGAGAACGAGGACAUCCUGGAAGAUAUCGUCCUGACCUUGACCCUUUUCGAGGAUCGCGAGAUGAUCGAGGAGAGGCUUAAG ACCUACGCUCAUCUCUUCGACGAUAAGGUCAUGAAACAACUCAAGCGCCGCCGGUACACUGGUUGGGGCCGCCUCUCCCGCAAGCUGAUCA ACGGUAUUCGCGAUAAACAGAGCGGUAAAACUAUCCUGGAUUUCCUCAAAUCGGAUGGCUUCGCUAAUCGUAACUUCAUGCAAUUGAUCCA CGACGACAGCCUGACCUUUAAGGAGGACAUCCAAAAAGCACAAGUGUCCGGACAGGGAGACUCACUCCAUGAACACAUCGCGAAUCUGGCC GGUUCGCCGGCGAUUAAGAAGGGAAUUCUGCAAACUGUGAAGGUGGUCGACGAGCUGGUGAAGGUCAUGGGACGGCACAAACCGGAGAAUA UCGUGAUUGAAAUGGCCCGAGAAAACCAGACUACCCAGAAGGGCCAGAAAAACUCCCGCGAAAGGAUGAAGCGGAUCGAAGAAGGAAUCAA GGAGCUGGGCAGCCAGAUCCUGAAAGAGCACCCGGUGGAAAACACGCAGCUGCAGAACGAGAAGCUCUACCUGUACUAUUUGCAAAAUGGA CGGGACAUGUACGUGGACCAAGAGCUGGACAUCAAUCGGUUGUCUGAUUACGACGUGGACCACAUCGUUCCACAGUCCUUUCUGAAGGAUG ACUCGAUCGAUAACAAGGUGUUGACUCGCAGCGACAAGAACAGAGGGAAGUCAGAUAAUGUGCCAUCGGAGGAGGUCGUGAAGAAGAUGAA GAAUUACUGGCGGCAGCUCCUGAAUGCGAAGCUGAUUACCCAGAGAAAGUUUGACAAUCUCACUAAAGCCGAGCGCGGCGGACUCUCAGAG CUGGAUAAGGCUGGAUUCAUCAAACGGCAGCUGGUCGAGACUCGGCAGAUUACCAAGCACGUGGCGCAGAUCUUGGACUCCCGCAUGAACA CUAAAUACGACGAGAACGAUAAGCUCAUCCGGGAAGUGAAGGUGAUUACCCUGAAAAGCAAACUUGUGUCGGACUUUCGGAAGGACUUUCA GUUUUACAAAGUGAGAGAAAUCAACAACUACCAUCACGCGCAUGACGCAUACCUCAACGCUGUGGUCGGUACCGCCCUGAUCAAAAAGUAC CCUAAACUUGAAUCGGAGUUUGUGUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUGAGGAAGAUGAUAGCCAAGUCCGAACAGGAAAUCGGGAAAG CAACUGCGAAAUACUUCUUUUACUCAAACAUCAUGAACUUUUUCAAGACUGAAAUUACGCUGGCCAAUGGAGAAAUCAGGAAGAGGCCACU GAUCGAAACUAACGGAGAAACGGGCGAAAUCGUGUGGGACAAGGGCAGGGACUUCGCAACUGUUCGCAAAGUGCUCUCUAUGCCGCAAGUC AAUAUUGUGAAGAAAACCGAAGUGCAAACCGGCGGAUUUUCAAAGGAAUCGAUCCUCCCAAAGAGAAAUAGCGACAAGCUCAUUGCACGCA AGAAAGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGAUUCGCCGACUGUCGCAUACUCCGUCCUCGUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGAAA GAGCAAAAAGCUCAAAUCCGUCAAAGAGCUGCUGGGGAUUACCAUCAUGGAACGAUCCUCGUUCGAGAAGAACCCGAUUGAUUUCCUCGAG GCGAAGGGUUACAAGGAGGUGAAGAAGGAUCUGAUCAUCAAACUCCCCAAGUACUCACUGUUCGAACUGGAAAAUGGUCGGAAGCGCAUGC UGGCUUCGGCCGGAGAACUCCAAAAAGGAAAUGAGCUGGCCUUGCCUAGCAAGUACGUCAACUUCCUCUAUCUUGCUUCGCACUACGAAAA ACUCAAAGGGUCACCGGAAGAUAACGAACAGAAGCAGCUUUUCGUGGAGCAGCACAAGCAUUAUCUGGAUGAAAUCAUCGAACAAAUCUCC GAGUUUUCAAAGCGCGUGAUCCUCGCCGACGCCAACCUCGACAAAGUCCUGUCGGCCUACAAUAAGCAUAGAGAUAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCCGAGAACAUUAUCCACUUGUUCACCCUGACUAACCUGGGAGCCCCAGCCGCCUUCAAGUACUUCGAUACUACUAUCGAUCGCAAAAG AUACACGUCCACCAAGGAAGUUCUGGACGCGACCCUGAUCCACCAAAGCAUCACUGGACUCUACGAAACUAGGAUCGAUCUGUCGCAGCUG GGUGGCGAUGGCGGUGGAUCUCCGAAAAAGAAGAGAAAGGUGUAAUGA	

Secuencia de aminoácidos de Cas9 nickasa (D10A)	MDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMA KVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVD KLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDD DLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKK AIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLK TYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA GSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNG RDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSE LDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKY PKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQV NIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLE AKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQIS EFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQL GGDGGGSPKKKRKV	6
Cas9 nickasa (D10A) ARNm ORF	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGA AGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCA AAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACA UCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAG ACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGAC AAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGA GCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGC ACUGAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGAC GACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCG ACAUCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACU GCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGAC GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACA GAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAG ACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUG GCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAG CAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAG	7

	GCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACA GCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCU GGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAG ACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCA ACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCA GGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA UCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAA GGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGA AGAGACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACG ACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAA GAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAA CUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACA CAAAGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCA GUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUAC CCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGG CAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCU GAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUC AACAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAA AGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAA GCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGC UGGCAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAA GCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGC GAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAG AUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUG GGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCUAG	
secuencia de aminoácidos de dCas9 (D10A H840A)	MDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMA KVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVD KLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDD DLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKK AIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLK	8

	TYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA GSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNG RDMYVDQELDINRLSDYDVDAIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSE LDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKY PKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQV NIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLE AKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQIS EFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQL GGDGGGSPKKKRKV	
dCas9 (D10A H840A) ARNm ORF	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGA AGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCA AAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACA UCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAG ACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGAC AAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGA GCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGC ACUGAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGAC GACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCG ACAUCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACU GCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGAC GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACA GAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAG ACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUG GCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAG CAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAG GCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACA GCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCU GGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAG ACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCA ACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCA GGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA	9

	UCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAA GGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGA AGAGACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACGCAAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACG ACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAA GAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAA CUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACA CAAAGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCA GUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUAC CCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGG CAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCU GAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUC AACAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAA AGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAA GCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGC UGGCAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAA GCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGC GAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAG AUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUG GGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCUAG	
secuencia codificadora de Cas9 bare	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGACAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGU UCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAAC AAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAG GUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCG UCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAGACU GAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAG CUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGAGCG CAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACU GAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGACGAC CUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACA UCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACUGCU GAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGA GGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGAG AAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACA	10

	GGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGGCA AGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAA GCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUA CUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCA AUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCG UCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGA CAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACA UACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACG GAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGA CGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCAGGA AGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCG UCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAAGGA ACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGA GACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGACA GCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAA CUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAACUG GACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAA AGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAGUU CUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCG AAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAA CAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAU CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAAC AUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGA AGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAG CAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCA AAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGCU GAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAA UUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAACAGG CAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUA CACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGA GGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUC	
secuencia codificadora de	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGU UCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAAC	**11**

Cas9 nickasa bare	AAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAG GUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCG UCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAGACU GAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAG CUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGAGCG CAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACU GAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGACGAC CUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACA UCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACUGCU GAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGA GGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGAG AAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACA GGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGGCA AGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAA GCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUA CUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCA AUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCG UCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGA CAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACA UACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACG GAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGA CGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCAGGA AGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCG UCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAAGGA ACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGA GACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGACA GCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAA CUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAACUG GACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAA AGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAGUU CUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCG AAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAA CAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAU CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAAC AUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGA	

	AGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAG CAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCA AAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGCU GAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAA UUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAACAGG CAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUA CACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGA GGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUC	
secuencia codificadora de dCas9 bare	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGU UCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAAC AAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAG GUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCG UCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAGACU GAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAG CUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGAGCG CAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACU GAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGACGAC CUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACA UCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACUGCU GAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGA GGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGAG AAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACA GGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGGCA AGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAA GCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUA CUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCA AUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCG UCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGA CAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACA UACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACG GAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGA CGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCAGGA AGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCG UCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAAGGA	**12**

	ACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGA GACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACGCAAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGACA GCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAA CUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAACUG GACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAA AGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAGUU CUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCG AAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAA CAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAU CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAAC AUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGA AGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAG CAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCA AAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGCU GAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAA UUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAACAGG CAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUA CACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGA GGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUC	
secuencia de aminoácidos de Cas9 (sin NLS)	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMA KVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVD KLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDD DLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKK AIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLK TYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA GSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNG RDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSE LDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKY PKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQV NIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLE AKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQIS EFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQL	**13**

	GGD	
SEQ ID NO: 13 codifcadora de Cas9 ARNm ORF usando codones de uridina mínimos como se enumera en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGACAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGA AGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCA AAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACA UCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAG ACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGAC AAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGA GCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGC ACUGAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGAC GACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCG ACAUCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACU GCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGAC GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACA GAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAG ACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUG GCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAG CAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAG GCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACA GCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCU GGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAG ACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCA ACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCA GGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA UCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAA GGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGA AGAGACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACG ACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAA GAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAA CUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACA CAAAGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCA GUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUAC	**14**

	CCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGG CAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCU GAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUC AACAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAA AGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAA GCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGC UGGCAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAA GCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGC GAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAG AUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUG GGAGGAGACUAG	
secuencia codificadora de Cas9 que codifica SEQ ID NO: 13 usando codones de uridina mínimos como se enumera en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGACAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGU UCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAAC AAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAG GUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCG UCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAGACU GAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAG CUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGAGCG CAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACU GAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGACGAC CUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACA UCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACUGCU GAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGA GGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGAG AAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACA GGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGGCA AGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAA GCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUA CUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCA AUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCG UCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGA CAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACA	**15**

	UACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACG GAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGA CGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCAGGA AGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCG UCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAAGGA ACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGA GACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGACA GCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAA CUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAACUG GACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAA AGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAGUU CUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCG AAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAA CAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAU CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAAC AUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGA AGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAG CAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCA AAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGCU GAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAA UUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAACAGG CAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUA CACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGA GGAGAC	
Secuencia de aminoácidos de Cas9 nickasa (sin NLS)	MDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMA KVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVD KLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDD DLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKK AIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLK TYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA GSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNG	**16**

	RDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSE LDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKY PKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQV NIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLE AKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQIS EFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQL GGD	
Cas9 nickasa ARNm ORF que codifica la SEQ ID NO: 16 usando codones de uridina mínimos como se enumera en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGA AGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCA AAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACA UCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAG ACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGAC AAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGA GCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGC ACUGAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGAC GACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCG ACAUCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACU GCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGAC GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACA GAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAG ACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUG GCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAG CAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAG GCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACA GCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCU GGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAG ACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCA ACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCA GGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA UCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAA GGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGA	**17**

	AGAGACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACG ACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAA GAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAA CUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACA CAAAGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCA GUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUAC CCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGG CAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCU GAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUC AACAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAA AGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAA GCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGC UGGCAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAA GCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGC GAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAG AUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUG GGAGGAGACUAG	
secuencia codificadora de Cas9 nickasa que codifica la SEQ ID NO: 16 usando codones de uridina mínimos como se enumera en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGU UCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAAC AAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAG GUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCG UCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAGACU GAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAG CUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGAGCG CAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACU GAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGACGAC CUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACA UCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACUGCU GAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGA GGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGAG AAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACA GGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGGCA AGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAA	**18**

fusión)	GCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUA CUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCA AUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCG UCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGA CAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACA UACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACG GAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGA CGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCAGGA AGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCG UCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAAGGA ACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGA GACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGACA GCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAA CUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAACUG GACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAA AGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAGUU CUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCG AAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAA CAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAU CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAAC AUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGA AGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAG CAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCA AAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGCU GAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAA UUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAACAGG CAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUA CACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGA GGAGAC	
Secuencia de aminoácidos de dCas9 (sin NLS)	MDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMA KVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVD KLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDD DLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL	**19**

	ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKK AIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLK TYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA GSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNG RDMYVDQELDINRLSDYDVDAIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSE LDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKY PKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQV NIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLE AKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQIS EFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQL GGD	
dCas9 ARNm ORF que codifica la SEQ ID NO: 19 usando codones de uridina mínimos como se enumera en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGA AGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCA AAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACA UCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAG ACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGAC AAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGA GCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGC ACUGAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGAC GACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCG ACAUCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACU GCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGAC GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACA GAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAG ACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUG GCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAG CAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAG GCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACA GCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCU GGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAG ACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCA ACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA	**20**

	CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCA GGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA UCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAA GGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGA AGAGACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACGCAAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACG ACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAA GAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAA CUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACA CAAAGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCA GUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUAC CCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGG CAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCU GAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUC AACAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAA AGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAA GCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGC UGGCAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAA GCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGC GAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAG AUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUG GGAGGAGACUAG	
secuencia codificadora de dCas9 que codifica la SEQ ID NO: 19 usando codones de uridina mínimos como se enumera en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGU UCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAAC AAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAG GUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCG UCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAGACU GAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAG CUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGAGCG CAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACU GAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGACGAC CUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACA UCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACUGCU GAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGA	**21**

secuencia codificadora de proteína de fusión)	GGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGAG AAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACA GGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGGCA AGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAA GCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUA CUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCA AUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCG UCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGA CAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACA UACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACG GAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGA CGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCAGGA AGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCG UCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAAGGA ACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGA GACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACGCAAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGACA GCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAA CUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAACUG GACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAA AGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAGUU CUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCG AAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAA CAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAU CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAAC AUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGA AGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAG CAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCA AAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGCU GAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAA UUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAACAGG CAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUA CACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGA GGAGACGGAGGAGGAAGC	

Secuencia de aminoácidos de Cas9 con dos señales de localización nuclear como los aminoácidos C-terminales	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMA KVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVD KLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDD DLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKK AIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLK TYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA GSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNG RDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSE LDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKY PKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQV NIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLE AKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQIS EFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQL GGD GSGSPKKKRKVDGSPKKKRKVDSG	**22**
Cas9 ARNm ORF que codifica la SEQ ID NO: 22 usando codones de uridina mínimos como se enumera en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGACAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGA AGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCA AAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACA UCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAG ACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGAC AAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGA GCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGC ACUGAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGAC GACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCG ACAUCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACU GCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGAC GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACA GAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAG ACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUG GCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAG CAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAG	**23**

	GCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACA GCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCU GGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAG ACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCA ACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCA GGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA UCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAA GGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGA AGAGACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACG ACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAA GAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAA CUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACA CAAAGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCA GUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUAC CCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGG CAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCU GAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUC AACAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAA AGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAA GCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGC UGGCAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAA GCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGC GAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAG AUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUG GGAGGAGACGGAAGCGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACAGCGGAUAG	
secuencia codificadora de Cas9 que codifica la SEQ ID NO: 23 usando codones de uridina mínimos	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGACAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGU UCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAAC AAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAG GUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCG UCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAGACU GAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAG	**24**

como se enumera en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	CUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGAGCG CAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACU GAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGACGAC CUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACA UCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACUGCU GAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGA GGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGAG AAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACA GGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGGCA AGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAA GCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUA CUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCA AUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCG UCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGA CAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACA UACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACG GAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGA CGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCAGGA AGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCG UCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAAGGA ACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGA GACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGACA GCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAA CUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAACUG GACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAA AGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAGUU CUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCG AAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAA CAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAU CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAAC AUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGA AGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAG CAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCA AAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGCU	

	GAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAA UUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAACAGG CAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUA CACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGA GGAGACGGAAGCGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACAGCGGA	
Secuencia de aminoácidos de Cas9 nickasa con dos señales de localización nuclear como los aminoácidos C-terminales	MDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMA KVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVD KLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDD DLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKK AIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLK TYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA GSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNG RDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSE LDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKY PKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQV NIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLE AKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQIS EFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQL GGDGSGSPKKKRKVDGSPKKKRKVDSG	**25**
Cas9 nickasa ARNm ORF que codifica la SEQ ID NO: 25 usando codones de uridina mínimos como se enumera en la Tabla 3, con codones de inicio y de parada	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGA AGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCA AAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACA UCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAG ACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGAC AAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGA GCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGC ACUGAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGAC GACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCG ACAUCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACU GCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGAC	**26**

	GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACA GAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAG ACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUG GCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAG CAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAG GCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACA GCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCU GGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAG ACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCA ACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCA GGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA UCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAA GGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGA AGAGACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACACUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACG ACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAA GAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAA CUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACA CAAAGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCA GUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUAC CCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGG CAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCU GAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUC AACAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAA AGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAA GCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGC UGGCAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAA GCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGC GAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAG AUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUG GGAGGAGACGGAAGCGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACAGCGGAUAG	

secuencia codificadora de Cas9 nickasa que codifica la SEQ ID NO: 25 usando codones de uridina mínimos como se enumera en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGU UCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAAC AAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAG GUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCG UCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAGACU GAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAG CUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGAGCG CAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACU GAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGACGAC CUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACA UCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACUGCU GAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGA GGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGAG AAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACA GGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGGCA AGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAA GCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUA CUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCA AUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCG UCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGA CAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACA UACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACG GAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGA CGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCAGGA AGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCG UCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAAGGA ACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGA GACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGACA GCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAA CUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAACUG GACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAA AGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAGUU CUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCG AAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAA CAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAU	**27**

	CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAAC AUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGA AGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAG CAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCA AAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGCU GAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAA UUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAACAGG CAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUA CACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGA GGAGAC GGAAGCGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACAGCGGA	
Secuencia de aminoácidos de dCas9 con dos señales de localización nuclear como los aminoácidos C-terminales	MDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMA KVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVD KLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDD DLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKK AIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLK TYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA GSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNG RDMYVDQELDINRLSDYDVDAIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSE LDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKY PKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQV NIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLE AKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQIS EFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQL GGDGSGSPKKKRKVDGSPKKKRKVDSG	**28**
dCas9 ARNm ORF que codifica la SEQ ID NO: 28 usando codones de uridina mínimos como se enumera en la Tabla 3, con	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGA AGUUCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCA AAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACA UCGUCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAG ACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGAC AAGCUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGA	**29**

codones de inicio y de parada	GCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGC ACUGAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGAC GACCUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCG ACAUCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACU GCUGAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGAC GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACA GAGAAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAG ACAGGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUG GCAAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAG CAAGCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGA AUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAG GCAAUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACA GCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCU GGACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAG ACAUACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCA ACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCA CGACGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCA GGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA UCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAA GGAACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGA AGAGACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACGCAAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACG ACAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAA GAACUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAA CUGGACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACA CAAAGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCA GUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUAC CCGAAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGG CAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCU GAUCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUC AACAUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAA AGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAA GCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGC UGGCAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAA GCUGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGC	

	GAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAAC AGGCAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAG AUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUG GGAGGAGAC GGAAGCGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACAGCGGAUAG	
secuencia codificadora de dCas9 que codifica la SEQ ID NO: 28 usando codones de uridina mínimos como se enumera en la Tabla 3 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGCAAUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGU UCAAGGUCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAAC AAGACUGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAAG GUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGAUCUUCGGAAACAUCG UCGACGAAGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCUGAGACU GAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAG CUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGGCAAUCCUGAGCG CAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACU GAGCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACAUACGACGACGAC CUGGACAACCUGCUGGCACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGGCAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGCGACA UCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGCACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAACACCACCAGGACCUGACACUGCU GAAGGCACUGGUCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUACAUCGACGGA GGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACAAGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGAACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGAG AAGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAAGCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACGCAAUCCUGAGAAGACA GGAAGACUUCUACCCGUUCCUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCUGACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGGCA AGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAAGAAGUCGUCGACAAGGGAGCAA GCGCACAGAGCUUCAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGCCGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUGUACGAAUA CUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAAGGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGGCAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCA AUCGUCGACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGUCAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCGAAUGCUUCGACAGCG UCGAAAUCAGCGGAGUCGAAGACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGA CAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUCGUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAUGAUCGAAGAAAGACUGAAGACA UACGCACACCUGUUCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACG GAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCAAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGA CGACAGCCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUCGCAAACCUGGCAGGA AGCCCGGCAAUCAAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUCG UCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGAAUCGAAGAAGGAAUCAAGGA ACUGGGAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCUGCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGAAGA GACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACGCAAUCGUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGACA GCAUCGACAACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCAAGAAGAUGAAGAA CUACUGGAGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCUGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAACUG GACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAA	**30**

	AGUACGACGAAAACGACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAGUU CUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACCACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCGGAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCG AAGCUGGAAAGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAA CAGCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAU CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGACAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGGUCAAC AUCGUCAAGAAGACAGAAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAGAAAGA AGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAG CAAGAAGCUGAAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACUUCCUGGAAGCA AAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGG CAAGCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACUACGAAAAGCU GAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACAAGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGCGAA UUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACAGAGACAAGCCGAUCAGAGAACAGG CAGAAAACAUCAUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAGAAAGAGAUA CACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACGCAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACGAAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGA GGAGAC GGAAGCGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGACAGCGGA	
promotor T7	TAATACGACTCACTATA	**31**
beta-globina humana 5′ UTR	ACATTTGCTTCTGACACAACTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACC	**32**
beta-globina humana 3′ UTR	GCTCGCTTTCTTGCTGTCCAATTTCTATTAAAGGTTCCTTTGTTCCCTAAGTCCAACTACTAAACTGGGGGATATTATGAAGGGCCTTGAG CATCTGGATTCTGCCTAATAAAAAACATTTATTTTCATTGC	**33**
alfa-globina humana 5′ UTR	CATAAACCCTGGCGCGCTCGCGGCCCGGCACTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCACC	**34**
alfa-globina humana 3′ UTR	GCTGGAGCCTCGGTGGCCATGCTTCTTGCCCCTTGGGCCTCCCCCCAGCCCCTCCTCCCCTTCCTGCACCCGTACCCCCGTGGTCTTTGAA TAAAGTCTGAGTGGGCGGC	**35**
***Xenopus laevis* beta-globina 5′ UTR**	AAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGCC	**36**
***Xenopus laevis* beta-globina 3′ UTR**	ACCAGCCTCAAGAACACCCGAATGGAGTCTCTAAGCTACATAATACCAACTTACACTTTACAAAATGTTGTCCCCCAAAATGTAGCCATTC GTATCTGCTCCTAATAAAAAGAAAGTTTCTTCACATTCT	**37**
hormona de crecimiento bovino 5′ UTR	CAGGGTCCTGTGGACAGCTCACCAGCT	**38**

hormona de crecimiento bovino 3′ UTR	TTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAA ATTGCATCGCA	**39**
Mus musculus hemoglobina alfa, cadena adulta 1 (Hba-a1), 3′UTR	GCTGCCTTCTGCGGGGCTTGCCTTCTGGCCATGCCCTTCTTCTCTCCCTTGCACCTGTACCTCTTGGTCTTTGAATAAAGCCTGAGTAGGA AG	**40**
HSD17B4 5′ UTR	TCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTC	**41**
ARN guía de G282 dirigido a TTR	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCm UmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	**42**
transcripto de Cas9 con 5′ UTR de HSD, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak y 3′ UTR de ALB	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCCGCCACCATGGACAAGAAGTAC AGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGG GAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAG AACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGC TTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCG CATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGC ACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAG CTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCA AGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACT GACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTG CTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCA ACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGT CAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAG GAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGA GAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTA CCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGC AGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCT TCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTA CAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTG CTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCG GAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAA CGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTG TTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACA	**43**

	AGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGAC ATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATC AAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGG CAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCA GATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTC GACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACA AGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACA GCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGA TTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAA ACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAG AGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGC GAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACT TCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGG AGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAG ACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACC CGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAA GAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAG GAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAG AACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCC GGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGA GTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCA TCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAA GGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGA GGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGA TCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCT TTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	
transcripto de Cas9 con 5′ UTR de HSD, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 4 y 3′ UTR de ALB	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCCATGGACAAGAAGTACAGCATC GGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACA CAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGC AAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTC CACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACC ACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGC ACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTC CAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCA	**44**

	GAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACC GAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCA CAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAG AAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACA GCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAA TTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGC AGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTT CCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTC GCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCG AAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGA ACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTC AAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCG AAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGA CATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGAC GACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGA GCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAA GGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAG GGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAG AAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCT GAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAG GAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCC TGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCT GAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATC AAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACA AGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAAT CAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTC GTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCT ACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAAC AGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAA GTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGA AGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGT CAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTC AAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGC AGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGA CAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATC	

	CTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACC TGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGT CCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGC CCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATA GCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTC TGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	
ORF alternativo de Cas9 con 19,36% contenido de U	ATGGATAAGAAGTACTCGATCGGGCTGGATATCGGAACTAATTCCGTGGGTTGGGCAGTGATCACGGATGAATACAAAGTGCCGTCCAAGA AGTTCAAGGTCCTGGGGAACACCGATAGACACAGCATCAAGAAGAATCTCATCGGAGCCCTGCTGTTTGACTCCGGCGAAACCGCAGAAGC GACCCGGCTCAAACGTACCGCGAGGCGACGCTACACCCGGCGGAAGAATCGCATCTGCTATCTGCAAGAAATCTTTTCGAACGAAATGGCA AAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGCCTGGAAGAATCTTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCATGAACGGCATCCTATCTTTGGAAACA TCGTGGACGAAGTGGCGTACCACGAAAAGTACCCGACCATCTACCATCTGCGGAAGAAGTTGGTTGACTCAACTGACAAGGCCGACCTCAG ATTGATCTACTTGGCCCTCGCCCATATGATCAAATTCCGCGGACACTTCCTGATCGAAGGCGATCTGAACCCTGATAACTCCGACGTGGAT AAGCTGTTCATTCAACTGGTGCAGACCTACAACCAACTGTTCGAAGAAAACCCAATCAATGCCAGCGGCGTCGATGCCAAGGCCATCCTGT CCGCCCGGCTGTCGAAGTCGCGGCGCCTCGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAGAAGAAGAACGGACTTTTCGGCAACTTGATCGC TCTCTCACTGGGACTCACTCCCAATTTCAAGTCCAATTTTGACCTGGCCGAGGACGCGAAGCTGCAACTCTCAAAGGACACCTACGACGAC GACTTGGACAATTTGCTGGCACAAATTGGCGATCAGTACGCGGATCTGTTCCTTGCCGCTAAGAACCTTTCGGACGCAATCTTGCTGTCCG ATATCCTGCGCGTGAACACCGAAATAACCAAAGCGCCGCTTAGCGCCTCGATGATTAAGCGGTACGACGAGCATCACCAGGATCTCACGCT GCTCAAAGCGCTCGTGAGACAGCAACTGCCTGAAAAGTACAAGGAGATTTTCTTCGACCAGTCCAAGAATGGGTACGCAGGGTACATCGAT GGAGGCGCCAGCCAGGAAGAGTTCTATAAGTTCATCAAGCCAATCCTGGAAAAGATGGACGGAACCGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACA GGGAGGATCTGCTCCGCAAACAGAGAACCTTTGACAACGGAAGCATTCCACACCAGATCCATCTGGGTGAGCTGCACGCCATCTTGCGGCG CCAGGAGGACTTTTACCCATTCCTCAAGGACAACCGGGAAAAGATCGAGAAAATTCTGACGTTCCGCATCCCGTATTACGTGGGCCCACTG GCGCGCGGCAATTCGCGCTTCGCGTGGATGACTAGAAAATCAGAGGAAACCATCACTCCTTGGAATTTCGAGGAAGTTGTGGATAAGGGAG CTTCGGCACAATCCTTCATCGAACGAATGACCAACTTCGACAAGAATCTCCCAAACGAGAAGGTGCTTCCTAAGCACAGCCTCCTTTACGA ATACTTCACTGTCTACAACGAACTGACTAAAGTGAAATACGTTACTGAAGGAATGAGGAAGCCGGCCTTTCTGAGCGGAGAACAGAAGAAA GCGATTGTCGATCTGCTGTTCAAGACCAACCGCAAGGTGACCGTCAAGCAGCTTAAAGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGTTTCGACT CAGTGGAAATCAGCGGAGTGGAGGACAGATTCAACGCTTCGCTGGGAACCTATCATGATCTCCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCT TGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAAGATATCGTCCTGACCTTGACCCTTTTCGAGGATCGCGAGATGATCGAGGAGAGGCTTAAG ACCTACGCTCATCTCTTCGACGATAAGGTCATGAAACAACTCAAGCGCCGCCGGTACACTGGTTGGGGCCGCCTCTCCCGCAAGCTGATCA ACGGTATTCGCGATAAACAGAGCGGTAAAACTATCCTGGATTTCCTCAAATCGGATGGCTTCGCTAATCGTAACTTCATGCAGTTGATCCA CGACGACAGCCTGACCTTTAAGGAGGACATCCAGAAAGCACAAGTGAGCGGACAGGGAGACTCACTCCATGAACACATCGCGAATCTGGCC GGTTCGCCGGCGATTAAGAAGGGAATCCTGCAAACTGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTCATGGGACGGCACAAACCGGAGAATA TCGTGATTGAAATGGCCCGAGAAAACCAGACTACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGCGAAAGGATGAAGCGGATCGAAGAAGGAATCAA GGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAAGAGCACCCGGTGGAAAACACGCAGCTGCAGAACGAGAAGCTCTACCTGTACTATTTGCAAAATGGA CGGGACATGTACGTGGACCAAGAGCTGGACATCAATCGGTTGTCTGATTACGACGTGGACCACATCGTTCCACAGTCCTTTCTGAAGGATG	**45**

	ACTCCATCGATAACAAGGTGTTGACTCGCAGCGACAAGAACAGAGGGAAGTCAGATAATGTGCCATCGGAGGAGGTCGTGAAGAAGATGAA GAATTACTGGCGGCAGCTCCTGAATGCGAAGCTGATTACCCAGAGAAAGTTTGACAATCTCACTAAAGCCGAGCGCGGCGGACTCTCAGAG CTGGATAAGGCTGGATTCATCAAACGGCAGCTGGTCGAGACTCGGCAGATTACCAAGCACGTGGCGCAGATCCTGGACTCCCGCATGAACA CTAAATACGACGAGAACGATAAGCTCATCCGGGAAGTGAAGGTGATTACCCTGAAAAGCAAACTTGTGTCGGACTTTCGGAAGGACTTTCA GTTTTACAAAGTGAGAGAAATCAACAACTACCATCACGCGCATGACGCATACCTCAACGCTGTGGTCGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTAC CCTAAACTTGAATCGGAGTTTGTGTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTGAGGAAGATGATAGCCAAGTCCGAACAGGAAATCGGGAAAG CAACTGCGAAATACTTCTTTTACTCAAACATCATGAACTTCTTCAAGACTGAAATTACGCTGGCCAATGGAGAAATCAGGAAGAGGCCACT GATCGAAACTAACGGAGAAACGGGCGAAATCGTGTGGGACAAGGGCAGGGACTTCGCAACTGTTCGCAAAGTGCTCTCTATGCCGCAAGTC AATATTGTGAAGAAAACCGAAGTGCAAACCGGCGGATTTTCAAAGGAATCGATCCTCCCAAAGAGAAATAGCGACAAGCTCATTGCACGCA AGAAAGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGATTCGCCGACTGTCGCATACTCCGTCCTCGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGAAA GAGCAAGAAGCTCAAATCCGTCAAAGAGCTGCTGGGGATTACCATCATGGAACGATCCTCGTTCGAGAAGAACCCGATTGATTTCCTGGAG GCGAAGGGTTACAAGGAGGTGAAGAAGGATCTGATCATCAAACTGCCCAAGTACTCACTGTTCGAACTGGAAAATGGTCGGAAGCGCATGC TGGCTTCGGCCGGAGAACTCCAGAAAGGAAATGAGCTGGCCTTGCCTAGCAAGTACGTCAACTTCCTCTATCTTGCTTCGCACTACGAGAA ACTCAAAGGGTCACCGGAAGATAACGAACAGAAGCAGCTTTTCGTGGAGCAGCACAAGCATTATCTGGATGAAATCATCGAACAAATCTCC GAGTTTTCAAAGCGCGTGATCCTCGCCGACGCCAACCTCGACAAAGTCCTGTCGGCCTACAATAAGCATAGAGATAAGCCGATCAGAGAAC AGGCCGAGAACATTATCCACTTGTTCACCCTGACTAACCTGGGAGCTCCAGCCGCCTTCAAGTACTTCGATACTACTATCGACCGCAAAAG ATACACGTCCACCAAGGAAGTTCTGGACGCGACCCTGATCCACCAAAGCATCACTGGACTCTACGAAACTAGGATCGATCTGTCGCAGCTG GGTGGCGATGGTGGCGGTGGATCCTACCCATACGACGTGCCTGACTACGCCTCCGGAGGTGGTGGCCCCAAGAAGAAACGGAAGGTGTGAT AG	
transcripto de Cas9 con 5′ UTR de HSD, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 45, secuencia de Kozak y 3′ UTR de ALB	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCTGCCACCATGGATAAGAAGTAC TCGATCGGGCTGGATATCGGAACTAATTCCGTGGGTTGGGCAGTGATCACGGATGAATACAAAGTGCCGTCCAAGAAGTTCAAGGTCCTGG GGAACACCGATAGACACAGCATCAAGAAGAATCTCATCGGAGCCCTGCTGTTTGACTCCGGCGAAACCGCAGAAGCGACCCGGCTCAAACG TACCGCGAGGCGACGCTACACCCGGCGGAAGAATCGCATCTGCTATCTGCAAGAAATCTTTTCGAACGAAATGGCAAAGGTGGACGACAGC TTCTTCCACCGCCTGGAAGAATCTTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCATGAACGGCATCCTATCTTTGGAAACATCGTGGACGAAGTGG CGTACCACGAAAAGTACCCGACCATCTACCATCTGCGGAAGAAGTTGGTTGACTCAACTGACAAGGCCGACCTCAGATTGATCTACTTGGC CCTCGCCCATATGATCAAATTCCGCGGACACTTCCTGATCGAAGGCGATCTGAACCCTGATAACTCCGACGTGGATAAGCTGTTCATTCAA CTGGTGCAGACCTACAACCAACTGTTCGAAGAAAACCCAATCAATGCCAGCGGCGTCGATGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGGCTGTCGA AGTCGCGGCGCCTCGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAGAAGAAGAACGGACTTTTCGGCAACTTGATCGCTCTCTCACTGGGACT CACTCCCAATTTCAAGTCCAATTTTGACCTGGCCGAGGACGCGAAGCTGCAACTCTCAAAGGACACCTACGACGACGACTTGGACAATTTG CTGGCACAAATTGGCGATCAGTACGCGGATCTGTTCCTTGCCGCTAAGAACCTTTCGGACGCAATCTTGCTGTCCGATATCCTGCGCGTGA ACACCGAAATAACCAAAGCGCCGCTTAGCGCCTCGATGATTAAGCGGTACGACGAGCATCACCAGGATCTCACGCTGCTCAAAGCGCTCGT GAGACAGCAACTGCCTGAAAAGTACAAGGAGATTTTCTTCGACCAGTCCAAGAATGGGTACGCAGGGTACATCGATGGAGGCGCCAGCCAG GAAGAGTTCTATAAGTTCATCAAGCCAATCCTGGAAAAGATGGACGGAACCGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGGGAGGATCTGCTCC GCAAACAGAGAACCTTTGACAACGGAAGCATTCCACACCAGATCCATCTGGGTGAGCTGCACGCCATCTTGCGGCGCCAGGAGGACTTTTA	**46**

	CCCATTCCTCAAGGACAACCGGGAAAAGATCGAGAAAATTCTGACGTTCCGCATCCCGTATTACGTGGGCCCACTGGCGCGCGGCAATTCG CGCTTCGCGTGGATGACTAGAAAATCAGAGGAAACCATCACTCCTTGGAATTTCGAGGAAGTTGTGGATAAGGGAGCTTCGGCACAATCCT TCATCGAACGAATGACCAACTTCGACAAGAATCTCCCAAACGAGAAGGTGCTTCCTAAGCACAGCCTCCTTTACGAATACTTCACTGTCTA CAACGAACTGACTAAAGTGAAATACGTTACTGAAGGAATGAGGAAGCCGGCCTTTCTGAGCGGAGAACAGAAGAAAGCGATTGTCGATCTG CTGTTCAAGACCAACCGCAAGGTGACCGTCAAGCAGCTTAAAGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGTTTCGACTCAGTGGAAATCAGCG GAGTGGAGGACAGATTCAACGCTTCGCTGGGAACCTATCATGATCTCCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTTGACAACGAGGAGAA CGAGGACATCCTGGAAGATATCGTCCTGACCTTGACCCTTTTCGAGGATCGCGAGATGATCGAGGAGAGGCTTAAGACCTACGCTCATCTC TTCGACGATAAGGTCATGAAACAACTCAAGCGCCGCCGGTACACTGGTTGGGGCCGCCTCTCCCGCAAGCTGATCAACGGTATTCGCGATA AACAGAGCGGTAAAACTATCCTGGATTTCCTCAAATCGGATGGCTTCGCTAATCGTAACTTCATGCAGTTGATCCACGACGACAGCCTGAC CTTTAAGGAGGACATCCAGAAAGCACAAGTGAGCGGACAGGGAGACTCACTCCATGAACACATCGCGAATCTGGCCGGTTCGCCGGCGATT AAGAAGGGAATCCTGCAAACTGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTCATGGGACGGCACAAACCGGAGAATATCGTGATTGAAATGG CCCGAGAAAACCAGACTACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGCGAAAGGATGAAGCGGATCGAAGAAGGAATCAAGGAGCTGGGCAGCCA GATCCTGAAAGAGCACCCGGTGGAAAACACGCAGCTGCAGAACGAGAAGCTCTACCTGTACTATTTGCAAAATGGACGGGACATGTACGTG GACCAAGAGCTGGACATCAATCGGTTGTCTGATTACGACGTGGACCACATCGTTCCACAGTCCTTTCTGAAGGATGACTCCATCGATAACA AGGTGTTGACTCGCAGCGACAAGAACAGAGGGAAGTCAGATAATGTGCCATCGGAGGAGGTCGTGAAGAAGATGAAGAATTACTGGCGGCA GCTCCTGAATGCGAAGCTGATTACCCAGAGAAAGTTTGACAATCTCACTAAAGCCGAGCGCGGCGGACTCTCAGAGCTGGATAAGGCTGGA TTCATCAAACGGCAGCTGGTCGAGACTCGGCAGATTACCAAGCACGTGGCGCAGATCCTGGACTCCCGCATGAACACTAAATACGACGAGA ACGATAAGCTCATCCGGGAAGTGAAGGTGATTACCCTGAAAAGCAAACTTGTGTCGGACTTTCGGAAGGACTTTCAGTTTTACAAAGTGAG AGAAATCAACAACTACCATCACGCGCATGACGCATACCTCAACGCTGTGGTCGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCTAAACTTGAATCG GAGTTTGTGTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTGAGGAAGATGATAGCCAAGTCCGAACAGGAAATCGGGAAAGCAACTGCGAAATACT TCTTTTACTCAAACATCATGAACTTCTTCAAGACTGAAATTACGCTGGCCAATGGAGAAATCAGGAAGAGGCCACTGATCGAAACTAACGG AGAAACGGGCGAAATCGTGTGGGACAAGGGCAGGGACTTCGCAACTGTTCGCAAAGTGCTCTCTATGCCGCAAGTCAATATTGTGAAGAAA ACCGAAGTGCAAACCGGCGGATTTTCAAAGGAATCGATCCTCCCAAAGAGAAATAGCGACAAGCTCATTGCACGCAAGAAAGACTGGGACC CGAAGAAGTACGGAGGATTCGATTCGCCGACTGTCGCATACTCCGTCCTCGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTCAA ATCCGTCAAAGAGCTGCTGGGGATTACCATCATGGAACGATCCTCGTTCGAGAAGAACCCGATTGATTTCCTGGAGGCGAAGGGTTACAAG GAGGTGAAGAAGGATCTGATCATCAAACTGCCCAAGTACTCACTGTTCGAACTGGAAAATGGTCGGAAGCGCATGCTGGCTTCGGCCGGAG AACTCCAGAAAGGAAATGAGCTGGCCTTGCCTAGCAAGTACGTCAACTTCCTCTATCTTGCTTCGCACTACGAGAAACTCAAAGGGTCACC GGAAGATAACGAACAGAAGCAGCTTTTCGTGGAGCAGCACAAGCATTATCTGGATGAAATCATCGAACAAATCTCCGAGTTTTCAAAGCGC GTGATCCTCGCCGACGCCAACCTCGACAAAGTCCTGTCGGCCTACAATAAGCATAGAGATAAGCCGATCAGAGAACAGGCCGAGAACATTA TCCACTTGTTCACCCTGACTAACCTGGGAGCTCCAGCCGCCTTCAAGTACTTCGATACTACTATCGACCGCAAAAGATACACGTCCACCAA GGAAGTTCTGGACGCGACCCTGATCCACCAAAGCATCACTGGACTCTACGAAACTAGGATCGATCTGTCGCAGCTGGGTGGCGATGGTGGC GGTGGATCCTACCCATACGACGTGCCTGACTACGCCTCCGGAGGTGGTGGCCCCAAGAAGAAACGGAAGGTGTGATAGCTAGCCATCACAT TTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAG CCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	

transcripto de Cas9 con 5′ UTR de HSD, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 45 y 3′ UTR de ALB	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCTATGGATAAGAAGTACTCGATC GGGCTGGATATCGGAACTAATTCCGTGGGTTGGGCAGTGATCACGGATGAATACAAAGTGCCGTCCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGGAACA CCGATAGACACAGCATCAAGAAGAATCTCATCGGAGCCCTGCTGTTTGACTCCGGCGAAACCGCAGAAGCGACCCGGCTCAAACGTACCGC GAGGCGACGCTACACCCGGCGGAAGAATCGCATCTGCTATCTGCAAGAAATCTTTTCGAACGAAATGGCAAAGGTGGACGACAGCTTCTTC CACCGCCTGGAAGAATCTTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCATGAACGGCATCCTATCTTTGGAAACATCGTGGACGAAGTGGCGTACC ACGAAAAGTACCCGACCATCTACCATCTGCGGAAGAAGTTGGTTGACTCAACTGACAAGGCCGACCTCAGATTGATCTACTTGGCCCTCGC CCATATGATCAAATTCCGCGGACACTTCCTGATCGAAGGCGATCTGAACCCTGATAACTCCGACGTGGATAAGCTGTTCATTCAACTGGTG CAGACCTACAACCAACTGTTCGAAGAAAACCCAATCAATGCCAGCGGCGTCGATGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGGCTGTCGAAGTCGC GGCGCCTCGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAGAAGAAGAACGGACTTTTCGGCAACTTGATCGCTCTCTCACTGGGACTCACTCC CAATTTCAAGTCCAATTTTGACCTGGCCGAGGACGCGAAGCTGCAACTCTCAAAGGACACCTACGACGACGACTTGGACAATTTGCTGGCA CAAATTGGCGATCAGTACGCGGATCTGTTCCTTGCCGCTAAGAACCTTTCGGACGCAATCTTGCTGTCCGATATCCTGCGCGTGAACACCG AAATAACCAAAGCGCCGCTTAGCGCCTCGATGATTAAGCGGTACGACGAGCATCACCAGGATCTCACGCTGCTCAAAGCGCTCGTGAGACA GCAACTGCCTGAAAAGTACAAGGAGATTTTCTTCGACCAGTCCAAGAATGGGTACGCAGGGTACATCGATGGAGGCGCCAGCCAGGAAGAG TTCTATAAGTTCATCAAGCCAATCCTGGAAAAGATGGACGGAACCGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGGGAGGATCTGCTCCGCAAAC AGAGAACCTTTGACAACGGAAGCATTCCACACCAGATCCATCTGGGTGAGCTGCACGCCATCTTGCGGCGCCAGGAGGACTTTTACCCATT CCTCAAGGACAACCGGGAAAAGATCGAGAAAATTCTGACGTTCCGCATCCCGTATTACGTGGGCCCACTGGCGCGCGGCAATTCGCGCTTC GCGTGGATGACTAGAAAATCAGAGGAAACCATCACTCCTTGGAATTTCGAGGAAGTTGTGGATAAGGGAGCTTCGGCACAATCCTTCATCG AACGAATGACCAACTTCGACAAGAATCTCCCAAACGAGAAGGTGCTTCCTAAGCACAGCCTCCTTTACGAATACTTCACTGTCTACAACGA ACTGACTAAAGTGAAATACGTTACTGAAGGAATGAGGAAGCCGGCCTTTCTGAGCGGAGAACAGAAGAAAGCGATTGTCGATCTGCTGTTC AAGACCAACCGCAAGGTGACCGTCAAGCAGCTTAAAGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGTTTCGACTCAGTGGAAATCAGCGGAGTGG AGGACAGATTCAACGCTTCGCTGGGAACCTATCATGATCTCCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTTGACAACGAGGAGAACGAGGA CATCCTGGAAGATATCGTCCTGACCTTGACCCTTTTCGAGGATCGCGAGATGATCGAGGAGAGGCTTAAGACCTACGCTCATCTCTTCGAC GATAAGGTCATGAAACAACTCAAGCGCCGCCGGTACACTGGTTGGGGCCGCCTCTCCCGCAAGCTGATCAACGGTATTCGCGATAAACAGA GCGGTAAAACTATCCTGGATTTCCTCAAATCGGATGGCTTCGCTAATCGTAACTTCATGCAGTTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTTAA GGAGGACATCCAGAAAGCACAAGTGAGCGGACAGGGAGACTCACTCCATGAACACATCGCGAATCTGGCCGGTTCGCCGGCGATTAAGAAG GGAATCCTGCAAACTGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTCATGGGACGGCACAAACCGGAGAATATCGTGATTGAAATGGCCCGAG AAAACCAGACTACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGCGAAAGGATGAAGCGGATCGAAGAAGGAATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCT GAAAGAGCACCCGGTGGAAAACACGCAGCTGCAGAACGAGAAGCTCTACCTGTACTATTTGCAAAATGGACGGGACATGTACGTGGACCAA GAGCTGGACATCAATCGGTTGTCTGATTACGACGTGGACCACATCGTTCCACAGTCCTTTCTGAAGGATGACTCCATCGATAACAAGGTGT TGACTCGCAGCGACAAGAACAGAGGGAAGTCAGATAATGTGCCATCGGAGGAGGTCGTGAAGAAGATGAAGAATTACTGGCGGCAGCTCCT GAATGCGAAGCTGATTACCCAGAGAAAGTTTGACAATCTCACTAAAGCCGAGCGCGGCGGACTCTCAGAGCTGGATAAGGCTGGATTCATC AAACGGCAGCTGGTCGAGACTCGGCAGATTACCAAGCACGTGGCGCAGATCCTGGACTCCCGCATGAACACTAAATACGACGAGAACGATA AGCTCATCCGGGAAGTGAAGGTGATTACCCTGAAAAGCAAACTTGTGTCGGACTTTCGGAAGGACTTTCAGTTTTACAAAGTGAGAGAAAT CAACAACTACCATCACGCGCATGACGCATACCTCAACGCTGTGGTCGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCTAAACTTGAATCGGAGTTT GTGTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTGAGGAAGATGATAGCCAAGTCCGAACAGGAAATCGGGAAAGCAACTGCGAAATACTTCTTTT	**47**

	ACTCAAACATCATGAACTTCTTCAAGACTGAAATTACGCTGGCCAATGGAGAAATCAGGAAGAGGCCACTGATCGAAACTAACGGAGAAAC GGGCGAAATCGTGTGGGACAAGGGCAGGGACTTCGCAACTGTTCGCAAAGTGCTCTCTATGCCGCAAGTCAATATTGTGAAGAAAACCGAA GTGCAAACCGGCGGATTTTCAAAGGAATCGATCCTCCCAAAGAGAAATAGCGACAAGCTCATTGCACGCAAGAAAGACTGGGACCCGAAGA AGTACGGAGGATTCGATTCGCCGACTGTCGCATACTCCGTCCTCGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTCAAATCCGT CAAAGAGCTGCTGGGGATTACCATCATGGAACGATCCTCGTTCGAGAAGAACCCGATTGATTTCCTGGAGGCGAAGGGTTACAAGGAGGTG AAGAAGGATCTGATCATCAAACTGCCCAAGTACTCACTGTTCGAACTGGAAAATGGTCGGAAGCGCATGCTGGCTTCGGCCGGAGAACTCC AGAAAGGAAATGAGCTGGCCTTGCCTAGCAAGTACGTCAACTTCCTCTATCTTGCTTCGCACTACGAGAAACTCAAAGGGTCACCGGAAGA TAACGAACAGAAGCAGCTTTTCGTGGAGCAGCACAAGCATTATCTGGATGAAATCATCGAACAAATCTCCGAGTTTTCAAAGCGCGTGATC CTCGCCGACGCCAACCTCGACAAAGTCCTGTCGGCCTACAATAAGCATAGAGATAAGCCGATCAGAGAACAGGCCGAGAACATTATCCACT TGTTCACCCTGACTAACCTGGGAGCTCCAGCCGCCTTCAAGTACTTCGATACTACTATCGACCGCAAAAGATACACGTCCACCAAGGAAGT TCTGGACGCGACCCTGATCCACCAAAGCATCACTGGACTCTACGAAACTAGGATCGATCTGTCGCAGCTGGGTGGCGATGGTGGCGGTGGA TCCTACCCATACGACGTGCCTGACTACGCCTCCGGAGGTGGTGGCCCCAAGAAGAAACGGAAGGTGTGATAGCTAGCCATCACATTTAAAA GCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACA CCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	
transcripto de Cas9 que comprende Cas9 ORF usando codones con expresión generalmen-te alta en humanos	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCCATGCCTAAGAAAAAGCGGAAG GTCGACGGGGATAAGAAGTACTCAATCGGGCTGGATATCGGAACTAATTCCGTGGGTTGGGCAGTGATCACGGATGAATACAAAGTGCCGT CCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGGAACACCGATAGACACAGCATCAAGAAAAATCTCATCGGAGCCCTGCTGTTTGACTCCGGCGAAACCGC AGAAGCGACCCGGCTCAAACGTACCGCGAGGCGACGCTACACCCGGCGGAAGAATCGCATCTGCTATCTGCAAGAGATCTTTTCGAACGAA ATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACCGCCTGGAAGAATCTTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCATGAACGGCATCCTATCTTTG GAAACATCGTCGACGAAGTGGCGTACCACGAAAAGTACCCGACCATCTACCATCTGCGGAAGAAGTTGGTTGACTCAACTGACAAGGCCGA CCTCAGATTGATCTACTTGGCCCTCGCCCATATGATCAAATTCCGCGGACACTTCCTGATCGAAGGCGATCTGAACCCTGATAACTCCGAC GTGGATAAGCTTTTCATTCAACTGGTGCAGACCTACAACCAACTGTTCGAAGAAAACCCAATCAATGCTAGCGGCGTCGATGCCAAGGCCA TCCTGTCCGCCCGGCTGTCGAAGTCGCGGCGCCTCGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAGAAAAAGAACGGACTTTTCGGCAACTT GATCGCTCTCTCACTGGGACTCACTCCCAATTTCAAGTCCAATTTTGACCTGGCCGAGGACGCGAAGCTGCAACTCTCAAAGGACACCTAC GACGACGACTTGGACAATTTGCTGGCACAAATTGGCGATCAGTACGCGGATCTGTTCCTTGCCGCTAAGAACCTTTCGGACGCAATCTTGC TGTCCGATATCCTGCGCGTGAACACCGAAATAACCAAAGCGCCGCTTAGCGCCTCGATGATTAAGCGGTACGACGAGCATCACCAGGATCT CACGCTGCTCAAAGCGCTCGTGAGACAGCAACTGCCTGAAAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAATGGGTACGCAGGGTAC ATCGATGGAGGCGCTAGCCAGGAAGAGTTCTATAAGTTCATCAAGCCAATCCTGGAAAAGATGGACGGAACCGAAGAACTGCTGGTCAAGC TGAACAGGGAGGATCTGCTCCGGAAACAGAGAACCTTTGACAACGGATCCATTCCCCACCAGATCCATCTGGGTGAGCTGCACGCCATCTT GCGGCGCCAGGAGGACTTTTACCCATTCCTCAAGGACAACCGGGAAAAGATCGAGAAAATTCTGACGTTCCGCATCCCGTATTACGTGGGC CCACTGGCGCGCGGCAATTCGCGCTTCGCGTGGATGACTAGAAAATCAGAGGAAACCATCACTCCTTGGAATTTCGAGGAAGTTGTGGATA AGGGAGCTTCGGCACAAAGCTTCATCGAACGAATGACCAACTTCGACAAGAATCTCCCAAACGAGAAGGTGCTTCCTAAGCACAGCCTCCT TTACGAATACTTCACTGTCTACAACGAACTGACTAAAGTGAAATACGTTACTGAAGGAATGAGGAAGCCGGCCTTTCTGTCCGGAGAACAG AAGAAAGCAATTGTCGATCTGCTGTTCAAGACCAACCGCAAGGTGACCGTCAAGCAGCTTAAAGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGTT	**48**

	TCGACTCAGTGGAAATCAGCGGGGTGGAGGACAGATTCAACGCTTCGCTGGGAACCTATCATGATCTCCTGAAGATCATCAAGGACAAGGA CTTCCTTGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAAGATATCGTCCTGACCTTGACCCTTTTCGAGGATCGCGAGATGATCGAGGAGAGG CTTAAGACCTACGCTCATCTCTTCGACGATAAGGTCATGAAACAACTCAAGCGCCGCCGGTACACTGGTTGGGGCCGCCTCTCCCGCAAGC TGATCAACGGTATTCGCGATAAACAGAGCGGTAAAACTATCCTGGATTTCCTCAAATCGGATGGCTTCGCTAATCGTAACTTCATGCAATT GATCCACGACGACAGCCTGACCTTTAAGGAGGACATCCAAAAAGCACAAGTGTCCGGACAGGGAGACTCACTCCATGAACACATCGCGAAT CTGGCCGGTTCGCCGGCGATTAAGAAGGGAATTCTGCAAACTGTGAAGGTGGTCGACGAGCTGGTGAAGGTCATGGGACGGCACAAACCGG AGAATATCGTGATTGAAATGGCCCGAGAAAACCAGACTACCCAGAAGGGCCAGAAAAACTCCCGCGAAAGGATGAAGCGGATCGAAGAAGG AATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAAGAGCACCCGGTGGAAAACACGCAGCTGCAGAACGAGAAGCTCTACCTGTACTATTTGCAA AATGGACGGGACATGTACGTGGACCAAGAGCTGGACATCAATCGGTTGTCTGATTACGACGTGGACCACATCGTTCCACAGTCCTTTCTGA AGGATGACTCGATCGATAACAAGGTGTTGACTCGCAGCGACAAGAACAGAGGGAAGTCAGATAATGTGCCATCGGAGGAGGTCGTGAAGAA GATGAAGAATTACTGGCGGCAGCTCCTGAATGCGAAGCTGATTACCCAGAGAAAGTTTGACAATCTCACTAAAGCCGAGCGCGGCGGACTC TCAGAGCTGGATAAGGCTGGATTCATCAAACGGCAGCTGGTCGAGACTCGGCAGATTACCAAGCACGTGGCGCAGATCTTGGACTCCCGCA TGAACACTAAATACGACGAGAACGATAAGCTCATCCGGGAAGTGAAGGTGATTACCCTGAAAAGCAAACTTGTGTCGGACTTTCGGAAGGA CTTTCAGTTTTACAAAGTGAGAGAAATCAACAACTACCATCACGCGCATGACGCATACCTCAACGCTGTGGTCGGTACCGCCCTGATCAAA AAGTACCCTAAACTTGAATCGGAGTTTGTGTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTGAGGAAGATGATAGCCAAGTCCGAACAGGAAATCG GGAAAGCAACTGCGAAATACTTCTTTTACTCAAACATCATGAACTTTTTCAAGACTGAAATTACGCTGGCCAATGGAGAAATCAGGAAGAG GCCACTGATCGAAACTAACGGAGAAACGGGCGAAATCGTGTGGGACAAGGGCAGGGACTTCGCAACTGTTCGCAAAGTGCTCTCTATGCCG CAAGTCAATATTGTGAAGAAAACCGAAGTGCAAACCGGCGGATTTTCAAAGGAATCGATCCTCCCAAAGAGAAATAGCGACAAGCTCATTG CACGCAAGAAAGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGATTCGCCGACTGTCGCATACTCCGTCCTCGTGGTGGCCAAGGTGGAGAA GGGAAAGAGCAAAAAGCTCAAATCCGTCAAAGAGCTGCTGGGGATTACCATCATGGAACGATCCTCGTTCGAGAAGAACCCGATTGATTTC CTCGAGGCGAAGGGTTACAAGGAGGTGAAGAAGGATCTGATCATCAAACTCCCCAAGTACTCACTGTTCGAACTGGAAAATGGTCGGAAGC GCATGCTGGCTTCGGCCGGAGAACTCCAAAAAGGAAATGAGCTGGCCTTGCCTAGCAAGTACGTCAACTTCCTCTATCTTGCTTCGCACTA CGAAAAACTCAAAGGGTCACCGGAAGATAACGAACAGAAGCAGCTTTTCGTGGAGCAGCACAAGCATTATCTGGATGAAATCATCGAACAA ATCTCCGAGTTTTCAAAGCGCGTGATCCTCGCCGACGCCAACCTCGACAAAGTCCTGTCGGCCTACAATAAGCATAGAGATAAGCCGATCA GAGAACAGGCCGAGAACATTATCCACTTGTTCACCCTGACTAACCTGGGAGCCCCAGCCGCCTTCAAGTACTTCGATACTACTATCGATCG CAAAAGATACACGTCCACCAAGGAAGTTCTGGACGCGACCCTGATCCACCAAAGCATCACTGGACTCTACGAAACTAGGATCGATCTGTCG CAGCTGGGTGGCGATTGATAGTCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATAGC TTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTG TGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	
transcripto de Cas9 que comprende secuencia de Kozak con Cas9 ORF usando codones con	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCCGCCACCATGCCTAAGAAAAAG CGGAAGGTCGACGGGGATAAGAAGTACTCAATCGGGCTGGATATCGGAACTAATTCCGTGGGTTGGGCAGTGATCACGGATGAATACAAAG TGCCGTCCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGGAACACCGATAGACACAGCATCAAGAAAAATCTCATCGGAGCCCTGCTGTTTGACTCCGGCGA AACCGCAGAAGCGACCCGGCTCAAACGTACCGCGAGGCGACGCTACACCCGGCGGAAGAATCGCATCTGCTATCTGCAAGAGATCTTTTCG AACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACCGCCTGGAAGAATCTTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCATGAACGGCATCCTA	**49**

expresión generalmen-te alta en humanos	TCTTTGGAAACATCGTCGACGAAGTGGCGTACCACGAAAAGTACCCGACCATCTACCATCTGCGGAAGAAGTTGGTTGACTCAACTGACAA GGCCGACCTCAGATTGATCTACTTGGCCCTCGCCCATATGATCAAATTCCGCGGACACTTCCTGATCGAAGGCGATCTGAACCCTGATAAC TCCGACGTGGATAAGCTTTTCATTCAACTGGTGCAGACCTACAACCAACTGTTCGAAGAAAACCCAATCAATGCTAGCGGCGTCGATGCCA AGGCCATCCTGTCCGCCCGGCTGTCGAAGTCGCGGCGCCTCGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAGAAAAAGAACGGACTTTTCGG CAACTTGATCGCTCTCTCACTGGGACTCACTCCCAATTTCAAGTCCAATTTTGACCTGGCCGAGGACGCGAAGCTGCAACTCTCAAAGGAC ACCTACGACGACGACTTGGACAATTTGCTGGCACAAATTGGCGATCAGTACGCGGATCTGTTCCTTGCCGCTAAGAACCTTTCGGACGCAA TCTTGCTGTCCGATATCCTGCGCGTGAACACCGAAATAACCAAAGCGCCGCTTAGCGCCTCGATGATTAAGCGGTACGACGAGCATCACCA GGATCTCACGCTGCTCAAAGCGCTCGTGAGACAGCAACTGCCTGAAAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAATGGGTACGCA GGGTACATCGATGGAGGCGCTAGCCAGGAAGAGTTCTATAAGTTCATCAAGCCAATCCTGGAAAAGATGGACGGAACCGAAGAACTGCTGG TCAAGCTGAACAGGGAGGATCTGCTCCGGAAACAGAGAACCTTTGACAACGGATCCATTCCCCACCAGATCCATCTGGGTGAGCTGCACGC CATCTTGCGGCGCCAGGAGGACTTTTACCCATTCCTCAAGGACAACCGGGAAAAGATCGAGAAAATTCTGACGTTCCGCATCCCGTATTAC GTGGGCCCACTGGCGCGCGGCAATTCGCGCTTCGCGTGGATGACTAGAAAATCAGAGGAAACCATCACTCCTTGGAATTTCGAGGAAGTTG TGGATAAGGGAGCTTCGGCACAAAGCTTCATCGAACGAATGACCAACTTCGACAAGAATCTCCCAAACGAGAAGGTGCTTCCTAAGCACAG CCTCCTTTACGAATACTTCACTGTCTACAACGAACTGACTAAAGTGAAATACGTTACTGAAGGAATGAGGAAGCCGGCCTTTCTGTCCGGA GAACAGAAGAAAGCAATTGTCGATCTGCTGTTCAAGACCAACCGCAAGGTGACCGTCAAGCAGCTTAAAGAGGACTACTTCAAGAAGATCG AGTGTTTCGACTCAGTGGAAATCAGCGGGGTGGAGGACAGATTCAACGCTTCGCTGGGAACCTATCATGATCTCCTGAAGATCATCAAGGA CAAGGACTTCCTTGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAAGATATCGTCCTGACCTTGACCCTTTTCGAGGATCGCGAGATGATCGAG GAGAGGCTTAAGACCTACGCTCATCTCTTCGACGATAAGGTCATGAAACAACTCAAGCGCCGCCGGTACACTGGTTGGGGCCGCCTCTCCC GCAAGCTGATCAACGGTATTCGCGATAAACAGAGCGGTAAAACTATCCTGGATTTCCTCAAATCGGATGGCTTCGCTAATCGTAACTTCAT GCAATTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTTAAGGAGGACATCCAAAAAGCACAAGTGTCCGGACAGGGAGACTCACTCCATGAACACATC GCGAATCTGGCCGGTTCGCCGGCGATTAAGAAGGGAATTCTGCAAACTGTGAAGGTGGTCGACGAGCTGGTGAAGGTCATGGGACGGCACA AACCGGAGAATATCGTGATTGAAATGGCCCGAGAAAACCAGACTACCCAGAAGGGCCAGAAAAACTCCCGCGAAAGGATGAAGCGGATCGA AGAAGGAATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAAGAGCACCCGGTGGAAAACACGCAGCTGCAGAACGAGAAGCTCTACCTGTACTAT TTGCAAAATGGACGGGACATGTACGTGGACCAAGAGCTGGACATCAATCGGTTGTCTGATTACGACGTGGACCACATCGTTCCACAGTCCT TTCTGAAGGATGACTCGATCGATAACAAGGTGTTGACTCGCAGCGACAAGAACAGAGGGAAGTCAGATAATGTGCCATCGGAGGAGGTCGT GAAGAAGATGAAGAATTACTGGCGGCAGCTCCTGAATGCGAAGCTGATTACCCAGAGAAAGTTTGACAATCTCACTAAAGCCGAGCGCGGC GGACTCTCAGAGCTGGATAAGGCTGGATTCATCAAACGGCAGCTGGTCGAGACTCGGCAGATTACCAAGCACGTGGCGCAGATCTTGGACT CCCGCATGAACACTAAATACGACGAGAACGATAAGCTCATCCGGGAAGTGAAGGTGATTACCCTGAAAAGCAAACTTGTGTCGGACTTTCG GAAGGACTTTCAGTTTTACAAAGTGAGAGAAATCAACAACTACCATCACGCGCATGACGCATACCTCAACGCTGTGGTCGGTACCGCCCTG ATCAAAAAGTACCCTAAACTTGAATCGGAGTTTGTGTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTGAGGAAGATGATAGCCAAGTCCGAACAGG AAATCGGGAAAGCAACTGCGAAATACTTCTTTTACTCAAACATCATGAACTTTTTCAAGACTGAAATTACGCTGGCCAATGGAGAAATCAG GAAGAGGCCACTGATCGAAACTAACGGAGAAACGGGCGAAATCGTGTGGGACAAGGGCAGGGACTTCGCAACTGTTCGCAAAGTGCTCTCT ATGCCGCAAGTCAATATTGTGAAGAAAACCGAAGTGCAAACCGGCGGATTTTCAAAGGAATCGATCCTCCCAAAGAGAAATAGCGACAAGC TCATTGCACGCAAGAAAGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGATTCGCCGACTGTCGCATACTCCGTCCTCGTGGTGGCCAAGGT GGAGAAGGGAAAGAGCAAAAAGCTCAAATCCGTCAAAGAGCTGCTGGGGATTACCATCATGGAACGATCCTCGTTCGAGAAGAACCCGATT	

	GATTTCCTCGAGGCGAAGGGTTACAAGGAGGTGAAGAAGGATCTGATCATCAAACTCCCCAAGTACTCACTGTTCGAACTGGAAAATGGTC GGAAGCGCATGCTGGCTTCGGCCGGAGAACTCCAAAAAGGAAATGAGCTGGCCTTGCCTAGCAAGTACGTCAACTTCCTCTATCTTGCTTC GCACTACGAAAAACTCAAAGGGTCACCGGAAGATAACGAACAGAAGCAGCTTTTCGTGGAGCAGCACAAGCATTATCTGGATGAAATCATC GAACAAATCTCCGAGTTTTCAAAGCGCGTGATCCTCGCCGACGCCAACCTCGACAAAGTCCTGTCGGCCTACAATAAGCATAGAGATAAGC CGATCAGAGAACAGGCCGAGAACATTATCCACTTGTTCACCCTGACTAACCTGGGAGCCCCAGCCGCCTTCAAGTACTTCGATACTACTAT CGATCGCAAAAGATACACGTCCACCAAGGAAGTTCTGGACGCGACCCTGATCCACCAAAGCATCACTGGACTCTACGAAACTAGGATCGAT CTGTCGCAGCTGGGTGGCGATTGATAGTCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATC AATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTT TCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	
Cas9 ORF con uniones de empalme eliminadas; 12,75% contenido de U	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGA AGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGC AACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACcggCTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACA TCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAG ACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGAC AAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGA GCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGC ACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGAC GACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCG ACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACT GCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGAC GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACA GAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAG ACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTG GCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAG CAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGA ATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAG GCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACA GCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCT GGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAG ACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCA ACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCA CGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCA GGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACA	**50**

	TCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAA GGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAaAACGGA AGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACG ACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAA GAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAA CTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACA CAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCA GTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTAC CCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGG CAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCT GATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTC AACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAA AGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAA GCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGC TGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAA GCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGC GAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAAC AGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAG ATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTG GGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAG	
transcripto de Cas9 con 5′ UTR de HSD, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 50, secuencia de Kozak y 3′ UTR de ALB	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCCGCCACCATGGACAAGAAGTAC AGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGG GAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAG AACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGC TTCTTCCACcggCTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCG CATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGC ACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAG CTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCA AGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACT GACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTG CTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCA ACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGT CAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAG	**51**

	GAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGA GAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTA CCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGC AGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCT TCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTA CAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTG CTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCG GAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAA CGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTG TTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACA AGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGAC ATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATC AAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGG CAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCA GATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAaAACGGAAGAGACATGTACGTC GACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACA AGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACA GCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGA TTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAA ACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAG AGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGC GAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACT TCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGG AGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAG ACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACC CGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAA GAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAG GAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAG AACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCC GGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGA GTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCA TCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAA GGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGA GGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGA TCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCT	

	TTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	
Cas9 ORF con mínimos codones de uridina usados con frecuencia en humanos en general; 12,75% contenido de U	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGA AGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGC CACCAGACTGAAGAGAACCGCCAGAAGAAGATACACCAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGAGACACCCCATCTTCGGCAACA TCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTGAG ACTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCAGAGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTGGAC AAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGA GCGCCAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTGATCGC CCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTACGACGAC GACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTGCTGAGCG ACATCCTGAGAGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGAGATACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCT GCTGAAGGCCCTGGTGAGACAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGCTACATCGAC GGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACA GAGAGGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGAGAAG ACAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACAGAGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCAGAATCCCCTACTACGTGGGCCCCCTG GCCAGAGGCAACAGCAGATTCGCCTGGATGACCAGAAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCG CCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGAGAATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCACAGCCTGCTGTACGA GTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGAGAAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGAGCAGAAGAAG GCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACAGAAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGACA GCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACAGATTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCT GGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACAGAGAGATGATCGAGGAGAGACTGAAG ACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACCGGCTGGGGCAGACTGAGCAGAAAGCTGATCA ACGGCATCAGAGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCA CGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCC GGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCAGACACAAGCCCGAGAACA TCGTGATCGAGATGGCCAGAGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCAGAGAGAGAATGAAGAGAATCGAGGAGGGCATCAA GGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGC AGAGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACG ACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCAGAAGCGACAAGAACAGAGGCAAGAGCGACAACGTGCCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAA GAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGAGAAAGTTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGAGAGGCGGCCTGAGCGAG CTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGAGACAGCTGGTGGAGACCAGACAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGATCCTGGACAGCAGAATGAACA CCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCAGAGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCA GTTCTACAAGGTGAGAGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTAC	**52**

	CCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGAGAAAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGG CCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAGATCAGAAAGAGACCCCT GATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCAGAGACTTCGCCACCGTGAGAAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTG AACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCCAGAA AGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAA GAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGAGAAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAG GCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCAGAAAGAGAATGC TGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAA GCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGC GAGTTCAGCAAGAGAGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAACAAGCACAGAGACAAGCCCATCAGAGAGC AGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACAGAAAGAG ATACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTACGAGACCAGAATCGACCTGAGCCAGCTG GGCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGAGAAAGGTGTGA	
transcripto de Cas9 con 5′ UTR de HSD, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 52, secuencia de Kozak y 3′ UTR de ALB	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCCGCCACCATGGACAAGAAGTAC AGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAGTTCAAGGTGCTGG GCAACACCGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCAGACTGAAGAG AACCGCCAGAAGAAGATACACCAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACAGC TTCTTCCACAGACTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGAGACACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGTGG CCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTGAGACTGATCTACCTGGC CCTGGCCCACATGATCAAGTTCAGAGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTCATCCAG CTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCCAGACTGAGCA AGAGCAGAAGACTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCT GACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCTG CTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTGA ACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGAGATACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGT GAGACAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAG GAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACAGAGAGGACCTGCTGA GAAAGCAGAGAACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGAGAAGACAGGAGGACTTCTA CCCCTTCCTGAAGGACAACAGAGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCAGAATCCCCTACTACGTGGGCCCCCTGGCCAGAGGCAACAGC AGATTCGCCTGGATGACCAGAAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCT TCATCGAGAGAATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTA CAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGAGAAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTG CTGTTCAAGACCAACAGAAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCG GCGTGGAGGACAGATTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAA	**53**

	CGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACAGAGAGATGATCGAGGAGAGACTGAAGACCTACGCCCACCTG TTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACCGGCTGGGGCAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGCATCAGAGACA AGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGAC CTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATC AAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCAGACACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGG CCAGAGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCAGAGAGAGAATGAAGAGAATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCA GATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCAGAGACATGTACGTG GACCAGGAGCTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACA AGGTGCTGACCAGAAGCGACAAGAACAGAGGCAAGAGCGACAACGTGCCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACA GCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGAGAAAGTTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGAGAGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGC TTCATCAAGAGACAGCTGGTGGAGACCAGACAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACCAAGTACGACGAGA ACGACAAGCTGATCAGAGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGAG AGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGC GAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGAGAAAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACT TCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAGATCAGAAAGAGACCCCTGATCGAGACCAACGG CGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCAGAGACTTCGCCACCGTGAGAAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAG ACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCCAGAAAGAAGGACTGGGACC CCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAA GAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGAGAAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAG GAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCAGAAAGAGAATGCTGGCCAGCGCCGGCG AGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCC CGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGAGA GTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAACAAGCACAGAGACAAGCCCATCAGAGAGCAGGCCGAGAACATCA TCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACAGAAAGAGATACACCAGCACCAA GGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTACGAGACCAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGC GGCAGCCCCAAGAAGAAGAGAAAGGTGTGACTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGA TCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCT TTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	
Cas9 ORF con mínimos codones de uridina usados sin frecuencia en humanos en general; 12,75%	ATGGACAAAAAATACAGCATAGGGCTAGACATAGGGACGAACAGCGTAGGGTGGGCGGTAATAACGGACGAATACAAAGTACCGAGCAAAA AATTCAAAGTACTAGGGAACACGGACCGACACAGCATAAAAAAAAAACCTAATAGGGGCGCTACTATTCGACAGCGGGGAAACGGCGGAAGC GACGCGACTAAAACGAACGGCGCGACGACGATACACGCGACGAAAAAACCGAATATGCTACCTACAAGAAATATTCAGCAACGAAATGGCG AAAGTAGACGACAGCTTCTTCCACCGACTAGAAGAAAGCTTCCTAGTAGAAGAAGACAAAAAACACGAACGACACCCGATATTCGGGAACA TAGTAGACGAAGTAGCGTACCACGAAAAATACCCGACGATATACCACCTACGAAAAAAACTAGTAGACAGCACGGACAAAGCGGACCTACG ACTAATATACCTAGCGCTAGCGCACATGATAAAATTCCGAGGGCACTTCCTAATAGAAGGGGACCTAAACCCGGACAACAGCGACGTAGAC	**54**

contenido de U	AAACTATTCATACAACTAGTACAAACGTACAACCAACTATTCGAAGAAAACCCGATAAACGCGAGCGGGGTAGACGCGAAAGCGATACTAA GCGCGCGACTAAGCAAAAGCCGACGACTAGAAAACCTAATAGCGCAACTACCGGGGGAAAAAAAAAAACGGGCTATTCGGGAACCTAATAGC GCTAAGCCTAGGGCTAACGCCGAACTTCAAAAGCAACTTCGACCTAGCGGAAGACGCGAAACTACAACTAAGCAAAGACACGTACGACGAC GACCTAGACAACCTACTAGCGCAAATAGGGGACCAATACGCGGACCTATTCCTAGCGGCGAAAAACCTAAGCGACGCGATACTACTAAGCG ACATACTACGAGTAAACACGGAAATAACGAAAGCGCCGCTAAGCGCGAGCATGATAAAACGATACGACGAACACCACCAAGACCTAACGCT ACTAAAAGCGCTAGTACGACAACAACTACCGGAAAAATACAAAGAAATATTCTTCGACCAAAGCAAAAACGGGTACGCGGGGTACATAGAC GGGGGGGCGAGCCAAGAAGAATTCTACAAATTCATAAAACCGATACTAGAAAAAATGGACGGGACGGAAGAACTACTAGTAAAACTAAACC GAGAAGACCTACTACGAAAACAACGAACGTTCGACAACGGGAGCATACCGCACCAAATACACCTAGGGGAACTACACGCGATACTACGACG ACAAGAAGACTTCTACCCGTTCCTAAAAGACAACCGAGAAAAAATAGAAAAAATACTAACGTTCCGAATACCGTACTACGTAGGGCCGCTA GCGCGAGGGAACAGCCGATTCGCGTGGATGACGCGAAAAAGCGAAGAAACGATAACGCCGTGGAACTTCGAAGAAGTAGTAGACAAAGGGG CGAGCGCGCAAAGCTTCATAGAACGAATGACGAACTTCGACAAAAACCTACCGAACGAAAAAGTACTACCGAAACACAGCCTACTATACGA ATACTTCACGGTATACAACGAACTAACGAAAGTAAAATACGTAACGGAAGGGATGCGAAAACCGGCGTTCCTAAGCGGGGAACAAAAAAAA GCGATAGTAGACCTACTATTCAAAACGAACCGAAAAGTAACGGTAAAACAACTAAAAGAAGACTACTTCAAAAAAATAGAATGCTTCGACA GCGTAGAAATAAGCGGGGTAGAAGACCGATTCAACGCGAGCCTAGGGACGTACCACGACCTACTAAAAATAATAAAAGACAAAGACTTCCT AGACAACGAAGAAAACGAAGACATACTAGAAGACATAGTACTAACGCTAACGCTATTCGAAGACCGAGAAATGATAGAAGAACGACTAAAA ACGTACGCGCACCTATTCGACGACAAAGTAATGAAACAACTAAAACGACGACGATACACGGGGTGGGGGCGACTAAGCCGAAAACTAATAA ACGGGATACGAGACAAACAAAGCGGGAAAACGATACTAGACTTCCTAAAAAGCGACGGGTTCGCGAACCGAAACTTCATGCAACTAATACA CGACGACAGCCTAACGTTCAAAGAAGACATACAAAAAGCGCAAGTAAGCGGGCAAGGGGACAGCCTACACGAACACATAGCGAACCTAGCG GGGAGCCCGGCGATAAAAAAAGGGATACTACAAACGGTAAAAGTAGTAGACGAACTAGTAAAAGTAATGGGGCGACACAAACCGGAAAACA TAGTAATAGAAATGGCGCGAGAAAACCAAACGACGCAAAAAGGGCAAAAAAACAGCCGAGAACGAATGAAACGAATAGAAGAAGGGATAAA AGAACTAGGGAGCCAAATACTAAAAGAACACCCGGTAGAAAACACGCAACTACAAAACGAAAAACTATACCTATACTACCTACAAAACGGG CGAGACATGTACGTAGACCAAGAACTAGACATAAACCGACTAAGCGACTACGACGTAGACCACATAGTACCGCAAAGCTTCCTAAAAGACG ACAGCATAGACAACAAAGTACTAACGCGAAGCGACAAAAACCGAGGGAAAAGCGACAACGTACCGAGCGAAGAAGTAGTAAAAAAAATGAA AAACTACTGGCGACAACTACTAAACGCGAAACTAATAACGCAACGAAAATTCGACAACCTAACGAAAGCGGAACGAGGGGGGCTAAGCGAA CTAGACAAAGCGGGGTTCATAAAACGACAACTAGTAGAAACGCGACAAATAACGAAACACGTAGCGCAAATACTAGACAGCCGAATGAACA CGAAATACGACGAAAACGACAAACTAATACGAGAAGTAAAAGTAATAACGCTAAAAAGCAAACTAGTAAGCGACTTCCGAAAAGACTTCCA ATTCTACAAAGTACGAGAAATAAACAACTACCACCACGCGCACGACGCGTACCTAAACGCGGTAGTAGGGACGGCGCTAATAAAAAAATAC CCGAAACTAGAAAGCGAATTCGTATACGGGGACTACAAAGTATACGACGTACGAAAAATGATAGCGAAAAGCGAACAAGAAATAGGGAAAG CGACGGCGAAATACTTCTTCTACAGCAACATAATGAACTTCTTCAAAACGGAAATAACGCTAGCGAACGGGGAAATACGAAAACGACCGCT AATAGAAACGAACGGGGAAACGGGGGAAATAGTATGGGACAAAGGGCGAGACTTCGCGACGGTACGAAAAGTACTAAGCATGCCGCAAGTA AACATAGTAAAAAAAACGGAAGTACAAACGGGGGGGTTCAGCAAAGAAAGCATACTACCGAAACGAAACAGCGACAAACTAATAGCGCGAA AAAAAGACTGGGACCCGAAAAAATACGGGGGGTTCGACAGCCCGACGGTAGCGTACAGCGTACTAGTAGTAGCGAAAGTAGAAAAAGGGAA AAGCAAAAAACTAAAAAGCGTAAAAGAACTACTAGGGATAACGATAATGGAACGAAGCAGCTTCGAAAAAAACCCGATAGACTTCCTAGAA GCGAAAGGGTACAAAGAAGTAAAAAAAGACCTAATAATAAAACTACCGAAATACAGCCTATTCGAACTAGAAAACGGGCGAAAACGAATGC TAGCGAGCGCGGGGGAACTACAAAAAGGGAACGAACTAGCGCTACCGAGCAAATACGTAAACTTCCTATACCTAGCGAGCCACTACGAAAA	

	ACTAAAAGGGAGCCCGGAAGACAACGAACAAAAACAACTATTCGTAGAACAACACAAACACTACCTAGACGAAATAATAGAACAAATAAGC GAATTCAGCAAACGAGTAATACTAGCGGACGCGAACCTAGACAAAGTACTAAGCGCGTACAACAAACACCGAGACAAACCGATACGAGAAC AAGCGGAAAACATAATACACCTATTCACGCTAACGAACCTAGGGGCGCCGGCGGCGTTCAAATACTTCGACACGACGATAGACCGAAAACG ATACACGAGCACGAAAGAAGTACTAGACGCGACGCTAATACACCAAAGCATAACGGGGCTATACGAAACGCGAATAGACCTAAGCCAACTA GGGGGGGACGGGGGGGGGAGCCCGAAAAAAAAACGAAAAGTATGA	
transcripto de Cas9 con 5′ UTR de HSD, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 54, secuencia de Kozak y 3′ UTR de ALB	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCCGCCACCATGGACAAAAAATAC AGCATAGGGCTAGACATAGGGACGAACAGCGTAGGGTGGGCGGTAATAACGGACGAATACAAAGTACCGAGCAAAAAATTCAAAGTACTAG GGAACACGGACCGACACAGCATAAAAAAAAAACCTAATAGGGGCGCTACTATTCGACAGCGGGGAAACGGCGGAAGCGACGCGACTAAAACG AACGGCGCGACGACGATACACGCGACGAAAAAACCGAATATGCTACCTACAAGAAATATTCAGCAACGAAATGGCGAAAGTAGACGACAGC TTCTTCCACCGACTAGAAGAAAGCTTCCTAGTAGAAGAAGACAAAAAACACGAACGACACCCGATATTCGGGAACATAGTAGACGAAGTAG CGTACCACGAAAAATACCCGACGATATACCACCTACGAAAAAAACTAGTAGACAGCACGGACAAAGCGGACCTACGACTAATATACCTAGC GCTAGCGCACATGATAAAATTCCGAGGGCACTTCCTAATAGAAGGGGACCTAAACCCGGACAACAGCGACGTAGACAAACTATTCATACAA CTAGTACAAACGTACAACCAACTATTCGAAGAAAACCCGATAAACGCGAGCGGGGTAGACGCGAAAGCGATACTAAGCGCGCGACTAAGCA AAAGCCGACGACTAGAAAACCTAATAGCGCAACTACCGGGGGAAAAAAAAAAACGGGCTATTCGGGAACCTAATAGCGCTAAGCCTAGGGCT AACGCCGAACTTCAAAAGCAACTTCGACCTAGCGGAAGACGCGAAACTACAACTAAGCAAAGACACGTACGACGACGACCTAGACAACCTA CTAGCGCAAATAGGGGACCAATACGCGGACCTATTCCTAGCGGCGAAAAACCTAAGCGACGCGATACTACTAAGCGACATACTACGAGTAA ACACGGAAATAACGAAAGCGCCGCTAAGCGCGAGCATGATAAAACGATACGACGAACACCACCAAGACCTAACGCTACTAAAAGCGCTAGT ACGACAACAACTACCGGAAAAATACAAAGAAATATTCTTCGACCAAAGCAAAAACGGGTACGCGGGGTACATAGACGGGGGGGCGAGCCAA GAAGAATTCTACAAATTCATAAAACCGATACTAGAAAAAATGGACGGGACGGAAGAACTACTAGTAAAACTAAACCGAGAAGACCTACTAC GAAAACAACGAACGTTCGACAACGGGAGCATACCGCACCAAATACACCTAGGGGAACTACACGCGATACTACGACGACAAGAAGACTTCTA CCCGTTCCTAAAAGACAACCGAGAAAAAATAGAAAAAATACTAACGTTCCGAATACCGTACTACGTAGGGCCGCTAGCGCGAGGGAACAGC CGATTCGCGTGGATGACGCGAAAAAGCGAAGAAACGATAACGCCGTGGAACTTCGAAGAAGTAGTAGACAAAGGGGCGAGCGCGCAAAGCT TCATAGAACGAATGACGAACTTCGACAAAAACCTACCGAACGAAAAAGTACTACCGAAACACAGCCTACTATACGAATACTTCACGGTATA CAACGAACTAACGAAAGTAAAATACGTAACGGAAGGGATGCGAAAACCGGCGTTCCTAAGCGGGGAACAAAAAAAAGCGATAGTAGACCTA CTATTCAAAACGAACCGAAAAGTAACGGTAAAACAACTAAAAGAAGACTACTTCAAAAAAATAGAATGCTTCGACAGCGTAGAAATAAGCG GGGTAGAAGACCGATTCAACGCGAGCCTAGGGACGTACCACGACCTACTAAAAATAATAAAAGACAAAGACTTCCTAGACAACGAAGAAAA CGAAGACATACTAGAAGACATAGTACTAACGCTAACGCTATTCGAAGACCGAGAAATGATAGAAGAACGACTAAAAACGTACGCGCACCTA TTCGACGACAAAGTAATGAAACAACTAAAACGACGACGATACACGGGGTGGGGGCGACTAAGCCGAAAACTAATAAACGGGATACGAGACA AACAAAGCGGGAAAACGATACTAGACTTCCTAAAAAGCGACGGGTTCGCGAACCGAAACTTCATGCAACTAATACACGACGACAGCCTAAC GTTCAAAGAAGACATACAAAAAGCGCAAGTAAGCGGGCAAGGGGACAGCCTACACGAACACATAGCGAACCTAGCGGGGAGCCCGGCGATA AAAAAAGGGATACTACAAACGGTAAAAGTAGTAGACGAACTAGTAAAAGTAATGGGGCGACACAAACCGGAAAACATAGTAATAGAAATGG CGCGAGAAAACCAAACGACGCAAAAAGGGCAAAAAAACAGCCGAGAACGAATGAAACGAATAGAAGAAGGGATAAAAGAACTAGGGAGCCA AATACTAAAAGAACACCCGGTAGAAAACACGCAACTACAAAACGAAAAACTATACCTATACTACCTACAAAACGGGCGAGACATGTACGTA GACCAAGAACTAGACATAAACCGACTAAGCGACTACGACGTAGACCACATAGTACCGCAAAGCTTCCTAAAAGACGACAGCATAGACAACA	**55**

	AAGTACTAACGCGAAGCGACAAAAACCGAGGGAAAAGCGACAACGTACCGAGCGAAGAAGTAGTAAAAAAAATGAAAAACTACTGGCGACA ACTACTAAACGCGAAACTAATAACGCAACGAAAATTCGACAACCTAACGAAAGCGGAACGAGGGGGGCTAAGCGAACTAGACAAAGCGGGG TTCATAAAACGACAACTAGTAGAAACGCGACAAATAACGAAACACGTAGCGCAAATACTAGACAGCCGAATGAACACGAAATACGACGAAA ACGACAAACTAATACGAGAAGTAAAAGTAATAACGCTAAAAAGCAAACTAGTAAGCGACTTCCGAAAAGACTTCCAATTCTACAAAGTACG AGAAATAAACAACTACCACCACGCGCACGACGCGTACCTAAACGCGGTAGTAGGGACGGCGCTAATAAAAAAATACCCGAAACTAGAAAGC GAATTCGTATACGGGGACTACAAAGTATACGACGTACGAAAAATGATAGCGAAAAGCGAACAAGAAATAGGGAAAGCGACGGCGAAATACT TCTTCTACAGCAACATAATGAACTTCTTCAAAACGGAAATAACGCTAGCGAACGGGGAAATACGAAAACGACCGCTAATAGAAACGAACGG GGAAACGGGGGAAATAGTATGGGACAAAGGGCGAGACTTCGCGACGGTACGAAAAGTACTAAGCATGCCGCAAGTAAACATAGTAAAAAAA ACGGAAGTACAAACGGGGGGGTTCAGCAAAGAAAGCATACTACCGAAACGAAACAGCGACAAACTAATAGCGCGAAAAAAAGACTGGGACC CGAAAAAATACGGGGGGTTCGACAGCCCGACGGTAGCGTACAGCGTACTAGTAGTAGCGAAAGTAGAAAAAGGGAAAAGCAAAAAACTAAA AAGCGTAAAAGAACTACTAGGGATAACGATAATGGAACGAAGCAGCTTCGAAAAAAACCCGATAGACTTCCTAGAAGCGAAAGGGTACAAA GAAGTAAAAAAAGACCTAATAATAAAACTACCGAAATACAGCCTATTCGAACTAGAAAACGGGCGAAAACGAATGCTAGCGAGCGCGGGGG AACTACAAAAAGGGAACGAACTAGCGCTACCGAGCAAATACGTAAACTTCCTATACCTAGCGAGCCACTACGAAAAACTAAAAGGGAGCCC GGAAGACAACGAACAAAAACAACTATTCGTAGAACAACACAAACACTACCTAGACGAAATAATAGAACAAATAAGCGAATTCAGCAAACGA GTAATACTAGCGGACGCGAACCTAGACAAAGTACTAAGCGCGTACAACAAACACCGAGACAAACCGATACGAGAACAAGCGGAAAACATAA TACACCTATTCACGCTAACGAACCTAGGGGCGCCGGCGGCGTTCAAATACTTCGACACGACGATAGACCGAAAACGATACACGAGCACGAA AGAAGTACTAGACGCGACGCTAATACACCAAAGCATAACGGGGCTATACGAAACGCGAATAGACCTAAGCCAACTAGGGGGGGACGGGGGG GGGAGCCCGAAAAAAAAACGAAAAGTATGACTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGA TCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCT TTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	
transcripto de Cas9 con AGG como primeros tres nucleótidos para usar con CleanCap™, **5′ UTR de HSD, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak y 3′ UTR de ALB**	AGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCCGCCACCATGGACAAGAAGTAC AGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGG GAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAG AACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGC TTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCG CATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGC ACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAG CTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCA AGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACT GACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTG CTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCA ACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGT CAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAG GAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGA	**56**

	GAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTA CCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGC AGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCT TCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTA CAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTG CTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCG GAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAA CGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTG TTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACA AGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGAC ATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATC AAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGG CAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCA GATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTC GACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACA AGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACA GCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGA TTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAA ACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAG AGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGC GAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACT TCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGG AGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAG ACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACC CGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAA GAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAG GAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAG AACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCC GGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGA GTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCA TCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAA GGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGA GGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGA TCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCT TTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	

transcripto de Cas9 con **5′ UTR de CMV, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak y 3′ UTR de ALB**	GGGCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCGCGGCCGGGAACGGTGCA TTGGAACGCGGATTCCCCGTGCCAAGAGTGACTCACCGTCCTTGACACGGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGA ACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCA TCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACAC AAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAA AGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGA CAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTT CAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAG CTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACC TGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAA CTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAG TACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCAC CGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAA GTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATC AAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACA ACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAG AGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGA AAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACT TCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAA GTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAG GTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACG CAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACAT CGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAG CAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCC TGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAA GGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACA GTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACAC AGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGT CGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAAC AGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACA AGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGAT CACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTC GAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAG TCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCA	**57**

	CGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTAC AAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGA ACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTG GGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGA TTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCG ACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGG AATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATC ATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAAC TGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCA GCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAAC CTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAA ACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACT GATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGA AAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTT TTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTAAT AAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	
transcripto de Cas9 con **5′ UTR de HBB, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak y 3′ UTR de HBB**	GGGacatttgcttctgacacaactgtgttcactagcaacctcaaacagacaccggatctgccaccATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACT GGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGAC AGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAA GAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAG ACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAA AAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACA TGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGAC ATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGA CTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACT TCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGAT CGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATC ACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGC TGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTA CAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGA ACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGA AGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATG GATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGA ATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGA	**58**

	CAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGAC AAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGAC AGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCC TGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAA GGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGA AAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAG ACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAAT CCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAAC CAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGG AACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACT GGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACA AGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACG CAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAG ACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTG ATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACA ACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTA CGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGC AACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAG AAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCA GACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTAC GGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGG AACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAA GGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAG GGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACG AACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGC AGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTC ACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGG ACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAA GAAGAAGAGAAAGGTCTAGctagcgctcgctttcttgctgtccaatttctattaaaggttcctttgttccctaagtccaactactaaactg ggggatattatgaagggccttgagcatctggattctgcctaataaaaaacatttatttttcattgcctcgag	
transcripto de Cas9 con **5’ UTR de XBG, ORF correspondiente a**	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGT CGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAAC CTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGA ACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGT	**59**

SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak y 3′ UTR de XBG	CGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCAC CTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACT TCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGA AAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAG CTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGG CAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCT GTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCA AGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAA TCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCT GGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATC CCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCG AAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGA AACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAAC CTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAG AAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAA GCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGA ACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACAC TGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAG AAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTG AAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCA GCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGT CGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAG AAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACAC AGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGA CTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGA AAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAA AGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACA GATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATC ACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACG CATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGA CGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAG ACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAA GAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGA AAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACA GTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCA	

	TGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCC GAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCG AGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCG AACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGT CCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGA GCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAGct agcaccagcctcaagaacacccgaatggagtctctaagctacataataccaacttacactttacaaaatgttgtcccccaaaatgtagcca ttcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttcttcacattctctcgag	
transcripto de Cas9 con AGG como primeros tres nucleótidos para usar con CleanCap™, **5′ UTR de XBG, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak y 3′ UTR de XBG**	AGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGT CGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAAC CTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGA ACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGT CGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCAC CTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACT TCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGA AAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAG CTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGG CAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCT GTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCA AGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAA TCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCT GGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATC CCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCG AAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGA AACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAAC CTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAG AAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAA GCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGA ACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACAC TGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAG AAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTG AAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCA GCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGT	**60**

	CGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAG AAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACAC AGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGA CTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGA AAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAA AGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACA GATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATC ACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACG CATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGA CGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAG ACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAA GAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGA AAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACA GTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCA TGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCC GAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCG AGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCG AACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGT CCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGA GCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAGct agcaccagcctcaagaacacccgaatggagtctctaagctacataataccaacttacactttacaaaatgttgtcccccaaaatgtagcca ttcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttcttcacattctctcgag	
transcripto de Cas9 con AGG como primeros tres nucleótidos para usar con CleanCap™, **5′ UTR de HSD, ORF correspondiente a SEQ ID NO: 4, secuencia de Kozak y 3′ UTR de ALB**	AGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCCGCCACCATGGACAAGAAGTAC AGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGG GAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAG AACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGC TTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCG CATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGC ACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAG CTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCA AGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACT GACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTG CTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCA	**61**

	ACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGT CAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAG GAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGA GAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTA CCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGC AGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCT TCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTA CAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTG CTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCG GAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAA CGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTG TTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACA AGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGAC ATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATC AAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGG CAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCA GATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTC GACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACA AGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACA GCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGA TTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAA ACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAG AGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGC GAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACT TCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGG AGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAG ACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACC CGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAA GAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAG GAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAG AACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCC GGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGA GTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCA TCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAA GGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGA	

	GGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGA TCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCT TTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAG	
30/30/39 secuencia poli-A	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACCGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAA	**62**
secuencia poli-A 100	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AA	**63**
G209 ARN guía	mC*mC*mA*GUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCAC CGAGUCGGUGCmU*mU*mU*U	**64**
ORF que codifica Neisseria meningitidis Cas9	ATGGCAGCATTCAAGCCGAACTCGATCAACTACATCCTGGGACTGGACATCGGAATCGCATCGGTCGGATGGGCAATGGTCGAAATCGACG AAGAAGAAAACCCGATCAGACTGATCGACCTGGGAGTCAGAGTCTTCGAAAGAGCAGAAGTCCCGAAGACAGGAGACTCGCTGGCAATGGC AAGAAGACTGGCAAGATCGGTCAGAAGACTGACAAGAAGAAGAGCACACAGACTGCTGAGAACAAGAAGACTGCTGAAGAGAGAAGGAGTC CTGCAGGCAGCAAACTTCGACGAAAACGGACTGATCAAGTCGCTGCCGAACACACCGTGGCAGCTGAGAGCAGCAGCACTGGACAGAAAGC TGACACCGCTGGAATGGTCGGCAGTCCTGCTGCACCTGATCAAGCACAGAGGATACCTGTCGCAGAGAAAGAACGAAGGAGAAACAGCAGA CAAGGAACTGGGAGCACTGCTGAAGGGAGTCGCAGGAAACGCACACGCACTGCAGACAGGAGACTTCAGAACACCGGCAGAACTGGCACTG AACAAGTTCGAAAAGGAATCGGGACACATCAGAAACCAGAGATCGGACTACTCGCACACATTCTCGAGAAAGGACCTGCAGGCAGAACTGA TCCTGCTGTTCGAAAAGCAGAAGGAATTCGGAAACCCGCACGTCTCGGGAGGACTGAAGGAAGGAATCGAAACACTGCTGATGACACAGAG ACCGGCACTGTCGGGAGACGCAGTCCAGAAGATGCTGGGACACTGCACATTCGAACCGGCAGAACCGAAGGCAGCAAAGAACACATACACA GCAGAAAGATTCATCTGGCTGACAAAGCTGAACAACCTGAGAATCCTGGAACAGGGATCGGAAAGACCGCTGACAGACACAGAAAGAGCAA CACTGATGGACGAACCGTACAGAAAGTCGAAGCTGACATACGCACAGGCAAGAAAGCTGCTGGGACTGGAAGACACAGCATTCTTCAAGGG ACTGAGATACGGAAAGGACAACGCAGAAGCATCGACACTGATGGAAATGAAGGCATACCACGCAATCTCGAGAGCACTGGAAAAGGAAGGA CTGAAGGACAAGAAGTCGCCGCTGAACCTGTCGCCGGAACTGCAGGACGAAATCGGAACAGCATTCTCGCTGTTCAAGACAGACGAAGACA TCACAGGAAGACTGAAGGACAGAATCCAGCCGGAAATCCTGGAAGCACTGCTGAAGCACATCTCGTTCGACAAGTTCGTCCAGATCTCGCT GAAGGCACTGAGAAGAATCGTCCCGCTGATGGAACAGGGAAAGAGATACGACGAAGCATGCGCAGAAATCTACGGAGACCACTACGGAAAG AAGAACACAGAAGAAAAGATCTACCTGCCGCCGATCCCGGCAGACGAAATCAGAAACCCGGTCGTCCTGAGAGCACTGTCGCAGGCAAGAA AGGTCATCAACGGAGTCGTCAGAAGATACGGATCGCCGGCAAGAATCCACATCGAAACAGCAAGAGAAGTCGGAAAGTCGTTCAAGGACAG AAAGGAAATCGAAAAGAGACAGGAAGAAAACAGAAAGGACAGAGAAAAGGCAGCAGCAAAGTTCAGAGAATACTTCCCGAACTTCGTCGGA GAACCGAAGTCGAAGGACATCCTGAAGCTGAGACTGTACGAACAGCAGCACGGAAAGTGCCTGTACTCGGGAAAGGAAATCAACCTGGGAA GACTGAACGAAAAGGGATACGTCGAAATCGACCACGCACTGCCGTTCTCGAGAACATGGGACGACTCGTTCAACAACAAGGTCCTGGTCCT GGGATCGGAAAACCAGAACAAGGGAAACCAGACACCGTACGAATACTTCAACGGAAAGGACAACTCGAGAGAATGGCAGGAATTCAAGGCA AGAGTCGAAACATCGAGATTCCCGAGATCGAAGAAGCAGAGAATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAAGACGGATTCAAGGAAAGAAACCTGA ACGACACAAGATACGTCAACAGATTCCTGTGCCAGTTCGTCGCAGACAGAATGAGACTGACAGGAAAGGGAAAGAAGAGAGTCTTCGCATC GAACGGACAGATCACAAACCTGCTGAGAGGATTCTGGGGACTGAGAAAGGTCAGAGCAGAAAACGACAGACACCACGCACTGGACGCAGTC GTCGTCGCATGCTCGACAGTCGCAATGCAGCAGAAGATCACAAGATTCGTCAGATACAAGGAAATGAACGCATTCGACGGAAAGACAATCG	**65**

	ACAAGGAAACAGGAGAAGTCCTGCACCAGAAGACACACTTCCCGCAGCCGTGGGAATTCTTCGCACAGGAAGTCATGATCAGAGTCTTCGG AAAGCCGGACGGAAAGCCGGAATTCGAAGAAGCAGACACACTGGAAAAGCTGAGAACACTGCTGGCAGAAAAGCTGTCGTCGAGACCGGAA GCAGTCCACGAATACGTCACACCGCTGTTCGTCTCGAGAGCACCGAACAGAAAGATGTCGGGACAGGGACACATGGAAACAGTCAAGTCGG CAAAGAGACTGGACGAAGGAGTCTCGGTCCTGAGAGTCCCGCTGACACAGCTGAAGCTGAAGGACCTGGAAAAGATGGTCAACAGAGAAAG AGAACCGAAGCTGTACGAAGCACTGAAGGCAAGACTGGAAGCACACAAGGACGACCCGGCAAAGGCATTCGCAGAACCGTTCTACAAGTAC GACAAGGCAGGAAACAGAACACAGCAGGTCAAGGCAGTCAGAGTCGAACAGGTCCAGAAGACAGGAGTCTGGGTCAGAAACCACAACGGAA TCGCAGACAACGCAACAATGGTCAGAGTAGACGTCTTCGAAAAGGGAGACAAGTACTACCTGGTCCCGATCTACTCGTGGCAGGTCGCAAA GGGAATCCTGCCGGACAGAGCAGTCGTCCAGGGAAAGGACGAAGAAGACTGGCAGCTGATCGACGACTCGTTCAACTTCAAGTTCTCGCTG CACCCGAACGACCTGGTCGAAGTCATCACAAAGAAGGCAAGAATGTTCGGATACTTCGCATCGTGCCACAGAGGAACAGGAAACATCAACA TCAGAATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGAAAGAACGGAATCCTGGAAGGAATCGGAGTCAAGACAGCACTGTCGTTCCAGAAGTACCA GATCGACGAACTGGGAAAGGAAATCAGACCGTGCAGACTGAAGAAGAGACCGCCGGTCAGATCCGGAAAGAGAACAGCAGACGGATCGGAA TTCGAATCGCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCGAATGA	
ORF que codifica Neisseria meningitidis Cas9 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GCAGCATTCAAGCCGAACTCGATCAACTACATCCTGGGACTGGACATCGGAATCGCATCGGTCGGATGGGCAATGGTCGAAATCGACGAAG AAGAAAACCCGATCAGACTGATCGACCTGGGAGTCAGAGTCTTCGAAAGAGCAGAAGTCCCGAAGACAGGAGACTCGCTGGCAATGGCAAG AAGACTGGCAAGATCGGTCAGAAGACTGACAAGAAGAAGAGCACACAGACTGCTGAGAACAAGAAGACTGCTGAAGAGAGAAGGAGTCCTG CAGGCAGCAAACTTCGACGAAAACGGACTGATCAAGTCGCTGCCGAACACACCGTGGCAGCTGAGAGCAGCAGCACTGGACAGAAAGCTGA CACCGCTGGAATGGTCGGCAGTCCTGCTGCACCTGATCAAGCACAGAGGATACCTGTCGCAGAGAAAGAACGAAGGAGAAACAGCAGACAA GGAACTGGGAGCACTGCTGAAGGGAGTCGCAGGAAACGCACACGCACTGCAGACAGGAGACTTCAGAACACCGGCAGAACTGGCACTGAAC AAGTTCGAAAAGGAATCGGGACACATCAGAAACCAGAGATCGGACTACTCGCACACATTCTCGAGAAAGGACCTGCAGGCAGAACTGATCC TGCTGTTCGAAAAGCAGAAGGAATTCGGAAACCCGCACGTCTCGGGAGGACTGAAGGAAGGAATCGAAACACTGCTGATGACACAGAGACC GGCACTGTCGGGAGACGCAGTCCAGAAGATGCTGGGACACTGCACATTCGAACCGGCAGAACCGAAGGCAGCAAAGAACACATACACAGCA GAAAGATTCATCTGGCTGACAAAGCTGAACAACCTGAGAATCCTGGAACAGGGATCGGAAAGACCGCTGACAGACACAGAAAGAGCAACAC TGATGGACGAACCGTACAGAAAGTCGAAGCTGACATACGCACAGGCAAGAAAGCTGCTGGGACTGGAAGACACAGCATTCTTCAAGGGACT GAGATACGGAAAGGACAACGCAGAAGCATCGACACTGATGGAAATGAAGGCATACCACGCAATCTCGAGAGCACTGGAAAAGGAAGGACTG AAGGACAAGAAGTCGCCGCTGAACCTGTCGCCGGAACTGCAGGACGAAATCGGAACAGCATTCTCGCTGTTCAAGACAGACGAAGACATCA CAGGAAGACTGAAGGACAGAATCCAGCCGGAAATCCTGGAAGCACTGCTGAAGCACATCTCGTTCGACAAGTTCGTCCAGATCTCGCTGAA GGCACTGAGAAGAATCGTCCCGCTGATGGAACAGGGAAAGAGATACGACGAAGCATGCGCAGAAATCTACGGAGACCACTACGGAAAGAAG AACACAGAAGAAAAGATCTACCTGCCGCCGATCCCGGCAGACGAAATCAGAAACCCGGTCGTCCTGAGAGCACTGTCGCAGGCAAGAAAGG TCATCAACGGAGTCGTCAGAAGATACGGATCGCCGGCAAGAATCCACATCGAAACAGCAAGAGAAGTCGGAAAGTCGTTCAAGGACAGAAA GGAAATCGAAAAGAGACAGGAAGAAAACAGAAAGGACAGAGAAAAGGCAGCAGCAAAGTTCAGAGAATACTTCCCGAACTTCGTCGGAGAA CCGAAGTCGAAGGACATCCTGAAGCTGAGACTGTACGAACAGCAGCACGGAAAGTGCCTGTACTCGGGAAAGGAAATCAACCTGGGAAGAC TGAACGAAAAGGGATACGTCGAAATCGACCACGCACTGCCGTTCTCGAGAACATGGGACGACTCGTTCAACAACAAGGTCCTGGTCCTGGG ATCGGAAAACCAGAACAAGGGAAACCAGACACCGTACGAATACTTCAACGGAAAGGACAACTCGAGAGAATGGCAGGAATTCAAGGCAAGA GTCGAAACATCGAGATTCCCGAGATCGAAGAAGCAGAGAATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAAGACGGATTCAAGGAAAGAAACCTGAACG ACACAAGATACGTCAACAGATTCCTGTGCCAGTTCGTCGCAGACAGAATGAGACTGACAGGAAAGGGAAAGAAGAGAGTCTTCGCATCGAA	**66**

	CGGACAGATCACAAACCTGCTGAGAGGATTCTGGGGACTGAGAAAGGTCAGAGCAGAAAACGACAGACACCACGCACTGGACGCAGTCGTC GTCGCATGCTCGACAGTCGCAATGCAGCAGAAGATCACAAGATTCGTCAGATACAAGGAAATGAACGCATTCGACGGAAAGACAATCGACA AGGAAACAGGAGAAGTCCTGCACCAGAAGACACACTTCCCGCAGCCGTGGGAATTCTTCGCACAGGAAGTCATGATCAGAGTCTTCGGAAA GCCGGACGGAAAGCCGGAATTCGAAGAAGCAGACACACTGGAAAAGCTGAGAACACTGCTGGCAGAAAAGCTGTCGTCGAGACCGGAAGCA GTCCACGAATACGTCACACCGCTGTTCGTCTCGAGAGCACCGAACAGAAAGATGTCGGGACAGGGACACATGGAAACAGTCAAGTCGGCAA AGAGACTGGACGAAGGAGTCTCGGTCCTGAGAGTCCCGCTGACACAGCTGAAGCTGAAGGACCTGGAAAAGATGGTCAACAGAGAAAGAGA ACCGAAGCTGTACGAAGCACTGAAGGCAAGACTGGAAGCACACAAGGACGACCCGGCAAAGGCATTCGCAGAACCGTTCTACAAGTACGAC AAGGCAGGAAACAGAACACAGCAGGTCAAGGCAGTCAGAGTCGAACAGGTCCAGAAGACAGGAGTCTGGGTCAGAAACCACAACGGAATCG CAGACAACGCAACAATGGTCAGAGTAGACGTCTTCGAAAAGGGAGACAAGTACTACCTGGTCCCGATCTACTCGTGGCAGGTCGCAAAGGG AATCCTGCCGGACAGAGCAGTCGTCCAGGGAAAGGACGAAGAAGACTGGCAGCTGATCGACGACTCGTTCAACTTCAAGTTCTCGCTGCAC CCGAACGACCTGGTCGAAGTCATCACAAAGAAGGCAAGAATGTTCGGATACTTCGCATCGTGCCACAGAGGAACAGGAAACATCAACATCA GAATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGAAAGAACGGAATCCTGGAAGGAATCGGAGTCAAGACAGCACTGTCGTTCCAGAAGTACCAGAT CGACGAACTGGGAAAGGAAATCAGACCGTGCAGACTGAAGAAGAGACCGCCGGTCAGATCCGGAAAGAGAACAGCAGACGGATCGGAATTC GAATCGCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCGAA	
Transcripto que comprende SEQ ID NO: 65 (que codifca Neisseria meningitidis Cas9)	GGGAGACCCAAGCTGGCTAGCGTTTAAACTTAAGCTTGGATCCGCCACCATGGCAGCATTCAAGCCGAACTCGATCAACTACATCCTGGGA CTGGACATCGGAATCGCATCGGTCGGATGGGCAATGGTCGAAATCGACGAAGAAGAAAACCCGATCAGACTGATCGACCTGGGAGTCAGAG TCTTCGAAAGAGCAGAAGTCCCGAAGACAGGAGACTCGCTGGCAATGGCAAGAAGACTGGCAAGATCGGTCAGAAGACTGACAAGAAGAAG AGCACACAGACTGCTGAGAACAAGAAGACTGCTGAAGAGAGAAGGAGTCCTGCAGGCAGCAAACTTCGACGAAAACGGACTGATCAAGTCG CTGCCGAACACACCGTGGCAGCTGAGAGCAGCAGCACTGGACAGAAAGCTGACACCGCTGGAATGGTCGGCAGTCCTGCTGCACCTGATCA AGCACAGAGGATACCTGTCGCAGAGAAAGAACGAAGGAGAAACAGCAGACAAGGAACTGGGAGCACTGCTGAAGGGAGTCGCAGGAAACGC ACACGCACTGCAGACAGGAGACTTCAGAACACCGGCAGAACTGGCACTGAACAAGTTCGAAAAGGAATCGGGACACATCAGAAACCAGAGA TCGGACTACTCGCACACATTCTCGAGAAAGGACCTGCAGGCAGAACTGATCCTGCTGTTCGAAAAGCAGAAGGAATTCGGAAACCCGCACG TCTCGGGAGGACTGAAGGAAGGAATCGAAACACTGCTGATGACACAGAGACCGGCACTGTCGGGAGACGCAGTCCAGAAGATGCTGGGACA CTGCACATTCGAACCGGCAGAACCGAAGGCAGCAAAGAACACATACACAGCAGAAAGATTCATCTGGCTGACAAAGCTGAACAACCTGAGA ATCCTGGAACAGGGATCGGAAAGACCGCTGACAGACACAGAAAGAGCAACACTGATGGACGAACCGTACAGAAAGTCGAAGCTGACATACG CACAGGCAAGAAAGCTGCTGGGACTGGAAGACACAGCATTCTTCAAGGGACTGAGATACGGAAAGGACAACGCAGAAGCATCGACACTGAT GGAAATGAAGGCATACCACGCAATCTCGAGAGCACTGGAAAAGGAAGGACTGAAGGACAAGAAGTCGCCGCTGAACCTGTCGCCGGAACTG CAGGACGAAATCGGAACAGCATTCTCGCTGTTCAAGACAGACGAAGACATCACAGGAAGACTGAAGGACAGAATCCAGCCGGAAATCCTGG AAGCACTGCTGAAGCACATCTCGTTCGACAAGTTCGTCCAGATCTCGCTGAAGGCACTGAGAAGAATCGTCCCGCTGATGGAACAGGGAAA GAGATACGACGAAGCATGCGCAGAAATCTACGGAGACCACTACGGAAAGAAGAACACAGAAGAAAAGATCTACCTGCCGCCGATCCCGGCA GACGAAATCAGAAACCCGGTCGTCCTGAGAGCACTGTCGCAGGCAAGAAAGGTCATCAACGGAGTCGTCAGAAGATACGGATCGCCGGCAA GAATCCACATCGAAACAGCAAGAGAAGTCGGAAAGTCGTTCAAGGACAGAAAGGAAATCGAAAAGAGACAGGAAGAAAACAGAAAGGACAG AGAAAAGGCAGCAGCAAAGTTCAGAGAATACTTCCCGAACTTCGTCGGAGAACCGAAGTCGAAGGACATCCTGAAGCTGAGACTGTACGAA CAGCAGCACGGAAAGTGCCTGTACTCGGGAAAGGAAATCAACCTGGGAAGACTGAACGAAAAGGGATACGTCGAAATCGACCACGCACTGC CGTTCTCGAGAACATGGGACGACTCGTTCAACAACAAGGTCCTGGTCCTGGGATCGGAAAACCAGAACAAGGGAAACCAGACACCGTACGA	**67**

	ATACTTCAACGGAAAGGACAACTCGAGAGAATGGCAGGAATTCAAGGCAAGAGTCGAAACATCGAGATTCCCGAGATCGAAGAAGCAGAGA ATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAAGACGGATTCAAGGAAAGAAACCTGAACGACACAAGATACGTCAACAGATTCCTGTGCCAGTTCGTCG CAGACAGAATGAGACTGACAGGAAAGGGAAAGAAGAGAGTCTTCGCATCGAACGGACAGATCACAAACCTGCTGAGAGGATTCTGGGGACT GAGAAAGGTCAGAGCAGAAAACGACAGACACCACGCACTGGACGCAGTCGTCGTCGCATGCTCGACAGTCGCAATGCAGCAGAAGATCACA AGATTCGTCAGATACAAGGAAATGAACGCATTCGACGGAAAGACAATCGACAAGGAAACAGGAGAAGTCCTGCACCAGAAGACACACTTCC CGCAGCCGTGGGAATTCTTCGCACAGGAAGTCATGATCAGAGTCTTCGGAAAGCCGGACGGAAAGCCGGAATTCGAAGAAGCAGACACACT GGAAAAGCTGAGAACACTGCTGGCAGAAAAGCTGTCGTCGAGACCGGAAGCAGTCCACGAATACGTCACACCGCTGTTCGTCTCGAGAGCA CCGAACAGAAAGATGTCGGGACAGGGACACATGGAAACAGTCAAGTCGGCAAAGAGACTGGACGAAGGAGTCTCGGTCCTGAGAGTCCCGC TGACACAGCTGAAGCTGAAGGACCTGGAAAAGATGGTCAACAGAGAAAGAGAACCGAAGCTGTACGAAGCACTGAAGGCAAGACTGGAAGC ACACAAGGACGACCCGGCAAAGGCATTCGCAGAACCGTTCTACAAGTACGACAAGGCAGGAAACAGAACACAGCAGGTCAAGGCAGTCAGA GTCGAACAGGTCCAGAAGACAGGAGTCTGGGTCAGAAACCACAACGGAATCGCAGACAACGCAACAATGGTCAGAGTAGACGTCTTCGAAA AGGGAGACAAGTACTACCTGGTCCCGATCTACTCGTGGCAGGTCGCAAAGGGAATCCTGCCGGACAGAGCAGTCGTCCAGGGAAAGGACGA AGAAGACTGGCAGCTGATCGACGACTCGTTCAACTTCAAGTTCTCGCTGCACCCGAACGACCTGGTCGAAGTCATCACAAAGAAGGCAAGA ATGTTCGGATACTTCGCATCGTGCCACAGAGGAACAGGAAACATCAACATCAGAATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGAAAGAACGGAA TCCTGGAAGGAATCGGAGTCAAGACAGCACTGTCGTTCCAGAAGTACCAGATCGACGAACTGGGAAAGGAAATCAGACCGTGCAGACTGAA GAAGAGACCGCCGGTCAGATCCGGAAAGAGAACAGCAGACGGATCGGAATTCGAATCGCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCGAATGATAGCTA GCTCGAGTCTAGAGGGCCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTG CCTTCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTA TTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGG	
Secuencia de aminoácidos de **Neisseria meningitidis Cas9**	MAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRTRRLLKREGV LQAANFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAGNAHALQTGDFRTPAELAL NKFEKESGHIRNQRSDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYT AERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEG LKDKKSPLNLSPELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGK KNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVG EPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLGRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKA RVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVADRMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAV VVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTLEKLRTLLAEKLSSRPE AVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGQGHMETVKSAKRLDEGVSVLRVPLTQLKLKDLEKMVNREREPKLYEALKARLEAHKDDPAKAFAEPFYKY DKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGVWVRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYYLVPIYSWQVAKGILPDRAVVQGKDEEDWQLIDDSFNFKFSL HPNDLVEVITKKARMFGYFASCHRGTGNINIRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKTALSFQKYQIDELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSE FESPKKKRKVE	**68**
G390 ARN guía	mG*mC*mC*GAGUCUGGAGAGCUGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCm UmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	**69**

G502 ARN guía	mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGCGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCm UmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	**70**
G509 ARN guía	mA*mA*mA*GUUCUAGAUGCCGUCCGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCm UmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	**71**
G534 ARN guía	mA*mC*mG*CAAAUAUCAGUCCAGCGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCm UmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	**72**
secuencia codificadora de ADN de eGFP	TCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGGAGCAG ACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAGCGGGTGTTGGCGGGTGTCGGGGCTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTGCAC CATATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAGGAGAAAATACCGCATCAGGCGCCATTCGCCATTCAGGCTGCGCAACTGTTGGGAAG GGCGATCGGTGCGGGCCTCTTCGCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTGCAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTC CCAGTCACGACGTTGTAAAACGACGGCCAGTGAATTCTAATACGACTCACTATAGGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTC GTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTGGTGCCCATCCTGGTCGAGCTGG ACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCAC CACCGGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAG CAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCG CCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAA GCTGGAGTACAACTACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTCAAGATCCGCCACAAC ATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGACAACCACTACC TGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCGGGATCACTCT CGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAATAGGAATTATGCAGTCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAG AAAATGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCA TTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAATCTAGACTTAAGCTTGATGAGCTCTAGCT TGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAA AGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTG CATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCGTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCG TTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGC AAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAAT CGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTC CGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTC GGTGTAGGTCGTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAG TCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGT TCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGT TGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCT CAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAA	**73**

	GGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGTTACCAATG CTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCGTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGG GAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCG GAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCC AGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTCACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCCGGTTCC CAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGG CCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTA CTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGA ACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCA CTCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTCACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGGG AATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGA TACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGACGTCTAAGAAACCATTA TTATCATGACATTAACCTATAAAAATAGGCGTATCACGAGGCCCTTTCGTCG	
Patrón modificado de sgARN, donde N son nucleótidos que codifican una secuencia de guía	mN*mN*mN*NNNNNNNNNNNNNNNNNGUUUUAG AmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAm AmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU	**74**

CMV-1 5′ UTR	**CAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCAT**	**75**
CMV-2 5′ UTR	**AGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCGCGGCCGGGAACGG**	**76**
CMV-3 5′ UTR	**TGCATTGGAACGCGGATTCCCCGTGCCAAGAGTGACTCACCG**	**77**
SV40 NLS	**PKKKRKV**	**78**
NLS 1 de ejemplo	**LAAKRSRTT**	**79**
NLS 2 de ejemplo	**QAAKRSRTT**	**80**
NLS 3 de ejemplo	**PAPAKRERTT**	**81**

NLS 4 de ejemplo	**QAAKRPRTT**	**82**
NLS 5 de ejemplo	**RAAKRPRTT**	**83**
NLS 6 de ejemplo	**AAAKRSWSMAA**	**84**
NLS 7 de ejemplo	**AAAKRVWSMAF**	**85**
NLS 8 de ejemplo	**AAAKRSWSMAF**	**86**
NLS 9 de ejemplo	**AAAKRKYFAA**	**87**
NLS 10 de ejemplo	**RAAKRKAFAA**	**88**
NLS 11 de ejemplo	**RAAKRKYFAV**	**89**
Alternate SV40 NLS	**PKKKRRV**	**90**
Nucleoplasmina NLS	**KRPAATKKAGQAKKKK**	**91**
Secuencia codificadora de ejemplo para SV40 NLS	**CCGAAGAAGAAGAGAAAGGTC**	**92**
Secuencia codificadora de ejemplo para NLS1	**CTGGCAGCAAAGAGAAGCAGAACAACA**	**93**

Secuencia codificadora de ejemplo para NLS2	**CAGGCAGCAAAGAGAAGCAGAACAACA**	**94**
Secuencia codificadora de ejemplo para NLS3	**CCGGCACCGGCAAAGAGAGAAAGAACAACA**	**95**
Secuencia codificadora de ejemplo para NLS4	**CAGGCAGCAAAGAGACCGAGAACAACA**	**96**
Secuencia codificadora de ejemplo para NLS5	**AGAGCAGCAAAGAGACCGAGAACAACA**	**97**
Secuencia codificadora de ejemplo para NLS6	**GCAGCAGCAAAGAGAAGCTGGAGCATGGCAGCA**	**98**
Secuencia codificadora de ejemplo para NLS7	**GCAGCAGCAAAGAGAGTCTGGAGCATGGCATTC**	**99**

Secuencia codificadora de ejemplo para NLS8	**GCAGCAGCAAAGAGAAGCTGGAGCATGGCATTC**	**100**
Secuencia codificadora de ejemplo para NLS9	**GCAGCAGCAAAGAGAAAGTACTTCGCAGCA**	**101**
Secuencia codificadora de ejemplo para NLS10	**AGAGCAGCAAAGAGAAAGGCATTCGCAGCA**	**102**
Secuencia codificadora de ejemplo para NLS11	**AGAGCAGCAAAGAGAAAGTACTTCGCAGTC**	**103**
Secuencia codificadora de ejemplo para alternate SV40 NLS	**CCGAAGAAGAAGAGAAGAGTC**	**104**
Secuencia de Kozak de ejemplo	**gccgccRccAUGG**	**105**

	No usada	106
Cas9 ORF usando codones de larga vida media de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACTCTATCGGTTTGGACATCGGTACCAACTCTGTCGGTTGGGCCGTCATCACCGACGAATACAAGGTCCCATCTAAG AAGTTCAAGGTCTTGGGTAACACCGACAGACACTCTATCAAGAAGAACTTGATCGGTGCCTTGTTGTTCGACTCTGGTGAAACCGCCGAA GCCACCAGATTGAAGAGAACCGCCAGAAGAAGATACACCAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACTTGCAAGAAATCTTCTCTAACGAAATG GCCAAGGTCGACGACTCTTTCTTCCACAGATTGGAAGAATCTTTCTTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCAATCTTCGGT AACATCGTCGACGAAGTCGCCTACCACGAAAAGTACCCAACCATCTACCACTTGAGAAAGAAGTTGGTCGACTCTACCGACAAGGCCGAC TTGAGATTGATCTACTTGGCCTTGGCCCACATGATCAAGTTCAGAGGTCACTTCTTGATCGAAGGTGACTTGAACCCAGACAACTCTGAC GTCGACAAGTTGTTCATCCAATTGGTCCAAACCTACAACCAATTGTTCGAAGAAAACCCAATCAACGCCTCTGGTGTCGACGCCAAGGCC ATCTTGTCTGCCAGATTGTCTAAGAGCAGAAGATTGGAAAACTTGATCGCCCAATTGCCAGGTGAAAAGAAGAACGGTTTGTTCGGTAAC TTGATCGCCTTGTCTTTGGGTTTGACCCCAAACTTCAAGTCTAACTTCGACTTGGCCGAAGACGCCAAGTTGCAATTGTCTAAGGACACC TACGACGACGACTTGGACAACTTGTTGGCCCAAATCGGTGACCAATACGCCGACTTGTTCTTGGCCGCCAAGAACTTGTCTGACGCCATC TTGTTGTCTGACATCTTGAGAGTCAACACCGAAATCACCAAGGCCCCATTGTCTGCCTCTATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAA GACTTGACCTTGTTGAAGGCCTTGGTCAGACAACAATTGCCAGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAATCTAAGAACGGTTACGCC GGTTACATCGACGGTGGTGCCTCTCAAGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCAATCTTGGAAAAGATGGACGGTACCGAAGAATTGTTG GTCAAGTTGAACAGAGAAGACTTGTTGAGAAAGCAAAGAACCTTCGACAACGGTTCTATCCCACACCAAATCCACTTGGGTGAATTGCAC GCCATCTTGAGAAGACAAGAAGACTTCTACCCATTCTTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCTTGACCTTCAGAATCCCATAC TACGTCGGTCCATTGGCCAGAGGTAACAGCAGATTCGCCTGGATGACCAGAAAGTCTGAAGAAACCATCACCCCATGGAACTTCGAAGAA GTCGTCGACAAGGGTGCCTCTGCCCAATCTTTCATCGAAAGAATGACCAACTTCGACAAGAACTTGCCAAACGAAAAGGTCTTGCCAAAG CACTCTTTGTTGTACGAATACTTCACCGTCTACAACGAATTGACCAAGGTCAAGTACGTCACCGAAGGTATGAGAAAGCCAGCCTTCTTG TCTGGTGAACAAAAGAAGGCCATCGTCGACTTGTTGTTCAAGACCAACAGAAAGGTCACCGTCAAGCAATTGAAGGAAGACTACTTCAAG AAGATCGAATGCTTCGACTCTGTCGAAATCTCTGGTGTCGAAGACAGATTCAACGCCTCTTTGGGTACCTACCACGACTTGTTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCTTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCTTGGAAGACATCGTCTTGACCTTGACCTTGTTCGAAGACAGAGAA ATGATCGAAGAAAGATTGAAGACCTACGCCCACTTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAATTGAAGAGAAGAAGATACACCGGTTGGGGT AGATTGAGCAGAAAGTTGATCAACGGTATCAGAGACAAGCAATCTGGTAAGACCATCTTGGACTTCTTGAAGTCTGACGGTTTCGCCAAC AGAAACTTCATGCAATTGATCCACGACGACTCTTTGACCTTCAAGGAAGACATCCAAAAGGCCCAAGTCTCTGGTCAAGGTGACTCTTTG CACGAACACATCGCCAACTTGGCCGGTTCTCCAGCCATCAAGAAGGGTATCTTGCAAACCGTCAAGGTCGTCGACGAATTGGTCAAGGTC ATGGGTAGACACAAGCCAGAAAACATCGTCATCGAAATGGCCAGAGAAAACCAAACCACCCAAAAGGGTCAAAAGAACAGCAGAGAAAGA ATGAAGAGAATCGAAGAAGGTATCAAGGAATTGGGTTCTCAAATCTTGAAGGAACACCCAGTCGAAAACACCCAATTGCAAAACGAAAAG TTGTACTTGTACTACTTGCAAAACGGTAGAGACATGTACGTCGACCAAGAATTGGACATCAACAGATTGTCTGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCACAATCTTTCTTGAAGGACGACTCTATCGACAACAAGGTCTTGACCAGATCTGACAAGAACAGAGGTAAGTCTGACAACGTC	107

	CCATCTGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAATTGTTGAACGCCAAGTTGATCACCCAAAGAAAGTTCGACAACTTG ACCAAGGCCGAAAGAGGTGGTTTGTCTGAATTGGACAAGGCCGGTTTCATCAAGAGACAATTGGTCGAAACCAGACAAATCACCAAGCAC GTCGCCCAAATCTTGGACAGCAGAATGAACACCAAGTACGACGAAAACGACAAGTTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACCTTGAAGTCT AAGTTGGTCTCTGACTTCAGAAAGGACTTCCAATTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACTTGAAC GCCGTCGTCGGTACCGCCTTGATCAAGAAGTACCCAAAGTTGGAATCTGAATTCGTCTACGGTGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG ATGATCGCCAAGTCTGAACAAGAAATCGGTAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCTAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAAATC ACCTTGGCCAACGGTGAAATCAGAAAGAGACCATTGATCGAAACCAACGGTGAAACCGGTGAAATCGTCTGGGACAAGGGTAGAGACTTC GCCACCGTCAGAAAGGTCTTGTCTATGCCACAAGTCAACATCGTCAAGAAGACCGAAGTCCAAACCGGTGGTTTCTCTAAGGAATCTATC TTGCCAAAGAGAAACTCTGACAAGTTGATCGCCAGAAAGAAGGACTGGGACCCAAAGAAGTACGGTGGTTTCGACTCTCCAACCGTCGCC TACTCTGTCTTGGTCGTCGCCAAGGTCGAAAAGGGTAAGTCTAAGAAGTTGAAGTCTGTCAAGGAATTGTTGGGTATCACCATCATGGAA AGATCTTCTTTCGAAAAGAACCCAATCGACTTCTTGGAAGCCAAGGGTTACAAGGAAGTCAAGAAGGACTTGATCATCAAGTTGCCAAAG TACTCTTTGTTCGAATTGGAAAACGGTAGAAAGAGAATGTTGGCCTCTGCCGGTGAATTGCAAAAGGGTAACGAATTGGCCTTGCCATCT AAGTACGTCAACTTCTTGTACTTGGCCTCTCACTACGAAAAGTTGAAGGGTTCTCCAGAAGACAACGAACAAAAGCAATTGTTCGTCGAA CAACACAAGCACTACTTGGACGAAATCATCGAACAAATCTCTGAATTCTCTAAGAGAGTCATCTTGGCCGACGCCAACTTGGACAAGGTC TTGTCTGCCTACAACAAGCACAGAGACAAGCCAATCAGAGAACAAGCCGAAAACATCATCCACTTGTTCACCTTGACCAACTTGGGTGCC CCAGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACAGAAAGAGATACACCTCTACCAAGGAAGTCTTGGACGCCACCTTGATCCACCAA TCTATCACCGGTTTGTACGAAACCAGAATCGACTTGTCTCAATTGGGTGGTGACGGTGGTGGTTCTCCAAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAA	
Cas9 ORF usando codones ricos en U de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGATAAAAAATATTCTATTGGTTTAGATATTGGTACTAATTCTGTTGGTTGGGCTGTTATTACTGATGAATATAAAGTTCCTTCTAAA AAATTTAAAGTTTTAGGTAATACTGATCGTCATTCTATTAAAAAAAATTTAATTGGTGCTTTATTATTTGATTCTGGTGAAACTGCTGAA GCTACTCGTTTAAAACGTACTGCTCGTCGTCGTTATACTCGTCGTAAAAATCGTATTTGTTATTTACAAGAAATTTTTTCTAATGAAATG GCTAAAGTTGATGATTCTTTTTTTCATCGTTTAGAAGAATCTTTTTTAGTTGAAGAAGATAAAAAACATGAACGTCATCCTATTTTTGGT AATATTGTTGATGAAGTTGCTTATCATGAAAAATATCCTACTATTTATCATTTACGTAAAAAATTAGTTGATTCTACTGATAAAGCTGAT TTACGTTTAATTTATTTAGCTTTAGCTCATATGATTAAATTTCGTGGTCATTTTTTAATTGAAGGTGATTTAAATCCTGATAATTCTGAT GTTGATAAATTATTTATTCAATTAGTTCAAACTTATAATCAATTATTTGAAGAAAATCCTATTAATGCTTCTGGTGTTGATGCTAAAGCT ATTTTATCTGCTCGTTTATCTAAATCTCGTCGTTTAGAAAATTTAATTGCTCAATTACCTGGTGAAAAAAAAAATGGTTTATTTGGTAAT TTAATTGCTTTATCTTTAGGTTTAACTCCTAATTTTAAATCTAATTTTGATTTAGCTGAAGATGCTAAATTACAATTATCTAAAGATACT TATGATGATGATTTAGATAATTTATTAGCTCAAATTGGTGATCAATATGCTGATTTATTTTTAGCTGCTAAAAATTTATCTGATGCTATT TTATTATCTGATATTTTACGTGTTAATACTGAAATTACTAAAGCTCCTTTATCTGCTTCTATGATTAAACGTTATGATGAACATCATCAA GATTTAACTTTATTAAAAGCTTTAGTTCGTCAACAATTACCTGAAAAATATAAAGAAATTTTTTTTGATCAATCTAAAAATGGTTATGCT GGTTATATTGATGGTGGTGCTTCTCAAGAAGAATTTTATAAATTTATTAAACCTATTTTAGAAAAAATGGATGGTACTGAAGAATTATTA GTTAAATTAAATCGTGAAGATTTATTACGTAAACAACGTACTTTTGATAATGGTTCTATTCCTCATCAAATTCATTTAGGTGAATTACAT GCTATTTTACGTCGTCAAGAAGATTTTTATCCTTTTTTAAAAGATAATCGTGAAAAAATTGAAAAAATTTTAACTTTTCGTATTCCTTAT TATGTTGGTCCTTTAGCTCGTGGTAATTCTCGTTTTGCTTGGATGACTCGTAAATCTGAAGAAACTATTACTCCTTGGAATTTTGAAGAA GTTGTTGATAAAGGTGCTTCTGCTCAATCTTTTATTGAACGTATGACTAATTTTGATAAAAATTTACCTAATGAAAAAGTTTTACCTAAA CATTCTTTATTATATGAATATTTTACTGTTTATAATGAATTAACTAAAGTTAAATATGTTACTGAAGGTATGCGTAAACCTGCTTTTTTA	108

	TCTGGTGAACAAAAAAAAGCTATTGTTGATTTATTATTTAAAACTAATCGTAAAGTTACTGTTAAACAATTAAAAGAAGATTATTTTAAA AAAATTGAATGTTTTGATTCTGTTGAAATTTCTGGTGTTGAAGATCGTTTTAATGCTTCTTTAGGTACTTATCATGATTTATTAAAAATT ATTAAAGATAAAGATTTTTTAGATAATGAAGAAAATGAAGATATTTTAGAAGATATTGTTTTAACTTTAACTTTATTTGAAGATCGTGAA ATGATTGAAGAACGTTTAAAAACTTATGCTCATTTATTTGATGATAAAGTTATGAAACAATTAAAACGTCGTCGTTATACTGGTTGGGGT CGTTTATCTCGTAAATTAATTAATGGTATTCGTGATAAACAATCTGGTAAAACTATTTTAGATTTTTTAAAATCTGATGGTTTTGCTAAT CGTAATTTTATGCAATTAATTCATGATGATTCTTTAACTTTTAAAGAAGATATTCAAAAAGCTCAAGTTTCTGGTCAAGGTGATTCTTTA CATGAACATATTGCTAATTTAGCTGGTTCTCCTGCTATTAAAAAAGGTATTTTACAAACTGTTAAAGTTGTTGATGAATTAGTTAAAGTT ATGGGTCGTCATAAACCTGAAAATATTGTTATTGAAATGGCTCGTGAAAATCAAACTACTCAAAAAGGTCAAAAAAATTCTCGTGAACGT ATGAAACGTATTGAAGAAGGTATTAAAGAATTAGGTTCTCAAATTTTAAAAGAACATCCTGTTGAAAATACTCAATTACAAAATGAAAAA TTATATTTATATTATTTACAAAATGGTCGTGATATGTATGTTGATCAAGAATTAGATATTAATCGTTTATCTGATTATGATGTTGATCAT ATTGTTCCTCAATCTTTTTTAAAAGATGATTCTATTGATAATAAAGTTTTAACTCGTTCTGATAAAAATCGTGGTAAATCTGATAATGTT CCTTCTGAAGAAGTTGTTAAAAAAATGAAAAATTATTGGCGTCAATTATTAAATGCTAAATTAATTACTCAACGTAAATTTGATAATTTA ACTAAAGCTGAACGTGGTGGTTTATCTGAATTAGATAAAGCTGGTTTTATTAAACGTCAATTAGTTGAAACTCGTCAAATTACTAAACAT GTTGCTCAAATTTTAGATTCTCGTATGAATACTAAATATGATGAAAATGATAAATTAATTCGTGAAGTTAAAGTTATTACTTTAAAATCT AAATTAGTTTCTGATTTTCGTAAAGATTTTCAATTTTATAAAGTTCGTGAAATTAATAATTATCATCATGCTCATGATGCTTATTTAAAT GCTGTTGTTGGTACTGCTTTAATTAAAAAATATCCTAAATTAGAATCTGAATTTGTTTATGGTGATTATAAAGTTTATGATGTTCGTAAA ATGATTGCTAAATCTGAACAAGAAATTGGTAAAGCTACTGCTAAATATTTTTTTTATTCTAATATTATGAATTTTTTTAAAACTGAAATT ACTTTAGCTAATGGTGAAATTCGTAAACGTCCTTTAATTGAAACTAATGGTGAAACTGGTGAAATTGTTTGGGATAAAGGTCGTGATTTT GCTACTGTTCGTAAAGTTTTATCTATGCCTCAAGTTAATATTGTTAAAAAAACTGAAGTTCAAACTGGTGGTTTTTCTAAAGAATCTATT TTACCTAAACGTAATTCTGATAAATTAATTGCTCGTAAAAAAGATTGGGATCCTAAAAAATATGGTGGTTTTGATTCTCCTACTGTTGCT TATTCTGTTTTAGTTGTTGCTAAAGTTGAAAAAGGTAAATCTAAAAAATTAAAATCTGTTAAAGAATTATTAGGTATTACTATTATGGAA CGTTCTTCTTTTGAAAAAAATCCTATTGATTTTTTAGAAGCTAAAGGTTATAAAGAAGTTAAAAAAGATTTAATTATTAAATTACCTAAA TATTCTTTATTTGAATTAGAAAATGGTCGTAAACGTATGTTAGCTTCTGCTGGTGAATTACAAAAAGGTAATGAATTAGCTTTACCTTCT AAATATGTTAATTTTTTATATTTAGCTTCTCATTATGAAAAATTAAAAGGTTCTCCTGAAGATAATGAACAAAAACAATTATTTGTTGAA CAACATAAACATTATTTAGATGAAATTATTGAACAAATTTCTGAATTTTCTAAACGTGTTATTTTAGCTGATGCTAATTTAGATAAAGTT TTATCTGCTTATAATAAACATCGTGATAAACCTATTCGTGAACAAGCTGAAAATATTATTCATTTATTTACTTTAACTAATTTAGGTGCT CCTGCTGCTTTTAAATATTTTGATACTACTATTGATCGTAAACGTTATACTTCTACTAAAGAAGTTTTAGATGCTACTTTAATTCATCAA TCTATTACTGGTTTATATGAAACTCGTATTGATTTATCTCAATTAGGTGGTGATGGTGGTGGTTCTCCTAAAAAAAAACGTAAAGTTTGA	
Cas9 ORF usando codones G bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAAAAATACTCCATCGGCCTCGACATCGGCACCAACTCCGTCGGCTGGGCCGTCATCACCGACGAATACAAAGTCCCCTCCAAA AAATTCAAAGTCCTCGGCAACACCGACAGACACTCCATCAAAAAAAACCTCATCGGCGCCCTCCTCTTCGACTCCGGCGAAACCGCCGAA GCCACCAGACTCAAAAGAACCGCCAGAAGAAGATACACCAGAAGAAAAAACAGAATCTGCTACCTCCAAGAAATCTTCTCCAACGAAATG GCCAAAGTCGACGACTCCTTCTTCCACAGACTCGAAGAATCCTTCCTCGTCGAAGAAGACAAAAAACACGAAAGACACCCCATCTTCGGC AACATCGTCGACGAAGTCGCCTACCACGAAAAATACCCCACCATCTACCACCTCAGAAAAAAACTCGTCGACTCCACCGACAAAGCCGAC CTCAGACTCATCTACCTCGCCCTCGCCCACATGATCAAATTCAGAGGCCACTTCCTCATCGAAGGCGACCTCAACCCCGACAACTCCGAC GTCGACAAACTCTTCATCCAACTCGTCCAAACCTACAACCAACTCTTCGAAGAAAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTCGACGCCAAAGCC	109

	ATCCTCTCCGCCAGACTCTCCAAATCCAGAAGACTCGAAAACCTCATCGCCCAACTCCCCGGCGAAAAAAAAAACGGCCTCTTCGGCAAC CTCATCGCCCTCTCCCTCGGCCTCACCCCCAACTTCAAATCCAACTTCGACCTCGCCGAAGACGCCAAACTCCAACTCTCCAAAGACACC TACGACGACGACCTCGACAACCTCCTCGCCCAAATCGGCGACCAATACGCCGACCTCTTCCTCGCCGCCAAAAACCTCTCCGACGCCATC CTCCTCTCCGACATCCTCAGAGTCAACACCGAAATCACCAAAGCCCCCCTCTCCGCCTCCATGATCAAAAGATACGACGAACACCACCAA GACCTCACCCTCCTCAAAGCCCTCGTCAGACAACAACTCCCCGAAAAATACAAAGAAATCTTCTTCGACCAATCCAAAAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAAGAAGAATTCTACAAATTCATCAAACCCATCCTCGAAAAAATGGACGGCACCGAAGAACTCCTC GTCAAACTCAACAGAGAAGACCTCCTCAGAAAACAAAGAACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAAATCCACCTCGGCGAACTCCAC GCCATCCTCAGAAGACAAGAAGACTTCTACCCCTTCCTCAAAGACAACAGAGAAAAAATCGAAAAAATCCTCACCTTCAGAATCCCCTAC TACGTCGGCCCCCTCGCCAGAGGCAACTCCAGATTCGCCTGGATGACCAGAAAATCCGAAGAAACCATCACCCCCTGGAACTTCGAAGAA GTCGTCGACAAAGGCGCCTCCGCCCAATCCTTCATCGAAAGAATGACCAACTTCGACAAAAACCTCCCCAACGAAAAAGTCCTCCCCAAA CACTCCCTCCTCTACGAATACTTCACCGTCTACAACGAACTCACCAAAGTCAAATACGTCACCGAAGGCATGAGAAAACCCGCCTTCCTC TCCGGCGAACAAAAAAAAGCCATCGTCGACCTCCTCTTCAAAACCAACAGAAAAGTCACCGTCAAACAACTCAAAGAAGACTACTTCAAA AAAATCGAATGCTTCGACTCCGTCGAAATCTCCGGCGTCGAAGACAGATTCAACGCCTCCCTCGGCACCTACCACGACCTCCTCAAAATC ATCAAAGACAAAGACTTCCTCGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTCGAAGACATCGTCCTCACCCTCACCCTCTTCGAAGACAGAGAA ATGATCGAAGAAAGACTCAAAACCTACGCCCACCTCTTCGACGACAAAGTCATGAAACAACTCAAAAGAAGAAGATACACCGGCTGGGGC AGACTCTCCAGAAAACTCATCAACGGCATCAGAGACAAACAATCCGGCAAAACCATCCTCGACTTCCTCAAATCCGACGGCTTCGCCAAC AGAAACTTCATGCAACTCATCCACGACGACTCCCTCACCTTCAAAGAAGACATCCAAAAAGCCCAAGTCTCCGGCCAAGGCGACTCCCTC CACGAACACATCGCCAACCTCGCCGGCTCCCCCGCCATCAAAAAAGGCATCCTCCAAACCGTCAAAGTCGTCGACGAACTCGTCAAAGTC ATGGGCAGACACAAACCCGAAAACATCGTCATCGAAATGGCCAGAGAAAACCAAACCACCCAAAAAGGCCAAAAAAACTCCAGAGAAAGA ATGAAAAGAATCGAAGAAGGCATCAAAGAACTCGGCTCCCAAATCCTCAAAGAACACCCCGTCGAAAACACCCAACTCCAAAACGAAAAA CTCTACCTCTACTACCTCCAAAACGGCAGAGACATGTACGTCGACCAAGAACTCGACATCAACAGACTCTCCGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCCCAATCCTTCCTCAAAGACGACTCCATCGACAACAAAGTCCTCACCAGATCCGACAAAAACAGAGGCAAATCCGACAACGTC CCCTCCGAAGAAGTCGTCAAAAAAATGAAAAACTACTGGAGACAACTCCTCAACGCCAAACTCATCACCCAAAGAAAATTCGACAACCTC ACCAAAGCCGAAAGAGGCGGCCTCTCCGAACTCGACAAAGCCGGCTTCATCAAAAGACAACTCGTCGAAACCAGACAAATCACCAAACAC GTCGCCCAAATCCTCGACTCCAGAATGAACACCAAATACGACGAAAACGACAAACTCATCAGAGAAGTCAAAGTCATCACCCTCAAATCC AAACTCGTCTCCGACTTCAGAAAAGACTTCCAATTCTACAAAGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTCAAC GCCGTCGTCGGCACCGCCCTCATCAAAAAATACCCCAAACTCGAATCCGAATTCGTCTACGGCGACTACAAAGTCTACGACGTCAGAAAA ATGATCGCCAAATCCGAACAAGAAATCGGCAAAGCCACCGCCAAATACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAAACCGAAATC ACCCTCGCCAACGGCGAAATCAGAAAAAGACCCCTCATCGAAACCAACGGCGAAACCGGCGAAATCGTCTGGGACAAAGGCAGAGACTTC GCCACCGTCAGAAAAGTCCTCTCCATGCCCCAAGTCAACATCGTCAAAAAAACCGAAGTCCAAACCGGCGGCTTCTCCAAAGAATCCATC CTCCCCAAAAGAAACTCCGACAAACTCATCGCCAGAAAAAAAGACTGGGACCCCAAAAAATACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTCGCC TACTCCGTCCTCGTCGTCGCCAAAGTCGAAAAAGGCAAATCCAAAAAACTCAAATCCGTCAAAGAACTCCTCGGCATCACCATCATGGAA AGATCCTCCTTCGAAAAAAACCCCATCGACTTCCTCGAAGCCAAAGGCTACAAAGAAGTCAAAAAAGACCTCATCATCAAACTCCCCAAA TACTCCCTCTTCGAACTCGAAAACGGCAGAAAAAGAATGCTCGCCTCCGCCGGCGAACTCCAAAAAGGCAACGAACTCGCCCTCCCCTCC AAATACGTCAACTTCCTCTACCTCGCCTCCCACTACGAAAAACTCAAAGGCTCCCCCGAAGACAACGAACAAAAACAACTCTTCGTCGAA	

	CAACACAAACACTACCTCGACGAAATCATCGAACAAATCTCCGAATTCTCCAAAAGAGTCATCCTCGCCGACGCCAACCTCGACAAAGTC CTCTCCGCCTACAACAAACACAGAGACAAACCCATCAGAGAACAAGCCGAAAACATCATCCACCTCTTCACCCTCACCAACCTCGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAATACTTCGACACCACCATCGACAGAAAAAGATACACCTCCACCAAAGAAGTCCTCGACGCCACCCTCATCCACCAA TCCATCACCGGCCTCTACGAAACCAGAATCGACCTCTCCCAACTCGGCGGCGACGGCGGCGGCTCCCCCAAAAAAAAAAGAAAAGTCTGA	
Cas9 ORF usando codones C bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGATAAGAAGTATAGTATTGGATTGGATATTGGAACAAATAGTGTGGGATGGGCTGTGATTACAGATGAGTATAAGGTGCCTAGTAAG AAGTTTAAGGTGTTGGGAAATACAGATAGACATAGTATTAAGAAGAATTTGATTGGAGCTTTGTTGTTTGATAGTGGAGAGACAGCTGAG GCTACAAGATTGAAGAGAACAGCTAGAAGAAGATATACAAGAAGAAAGAATAGAATTTGTTATTTGCAGGAGATTTTTAGTAATGAGATG GCTAAGGTGGATGATAGTTTTTTTCATAGATTGGAGGAGAGTTTTTTGGTGGAGGAGGATAAGAAGCATGAGAGACATCCTATTTTTGGA AATATTGTGGATGAGGTGGCTTATCATGAGAAGTATCCTACAATTTATCATTTGAGAAAGAAGTTGGTGGATAGTACAGATAAGGCTGAT TTGAGATTGATTTATTTGGCTTTGGCTCATATGATTAAGTTTAGAGGACATTTTTTGATTGAGGGAGATTTGAATCCTGATAATAGTGAT GTGGATAAGTTGTTTATTCAGTTGGTGCAGACATATAATCAGTTGTTTGAGGAGAATCCTATTAATGCTAGTGGAGTGGATGCTAAGGCT ATTTTGAGTGCTAGATTGAGTAAGAGTAGAAGATTGGAGAATTTGATTGCTCAGTTGCCTGGAGAGAAGAAGAATGGATTGTTTGGAAAT TTGATTGCTTTGAGTTTGGGATTGACACCTAATTTTAAGAGTAATTTTGATTTGGCTGAGGATGCTAAGTTGCAGTTGAGTAAGGATACA TATGATGATGATTTGGATAATTTGTTGGCTCAGATTGGAGATCAGTATGCTGATTTGTTTTTGGCTGCTAAGAATTTGAGTGATGCTATT TTGTTGAGTGATATTTTGAGAGTGAATACAGAGATTACAAAGGCTCCTTTGAGTGCTAGTATGATTAAGAGATATGATGAGCATCATCAG GATTTGACATTGTTGAAGGCTTTGGTGAGACAGCAGTTGCCTGAGAAGTATAAGGAGATTTTTTTTGATCAGAGTAAGAATGGATATGCT GGATATATTGATGGAGGAGCTAGTCAGGAGGAGTTTTATAAGTTTATTAAGCCTATTTTGGAGAAGATGGATGGAACAGAGGAGTTGTTG GTGAAGTTGAATAGAGAGGATTTGTTGAGAAAGCAGAGAACATTTGATAATGGAAGTATTCCTCATCAGATTCATTTGGGAGAGTTGCAT GCTATTTTGAGAAGACAGGAGGATTTTTATCCTTTTTTGAAGGATAATAGAGAGAAGATTGAGAAGATTTTGACATTTAGAATTCCTTAT TATGTGGGACCTTTGGCTAGAGGAAATAGTAGATTTGCTTGGATGACAAGAAAGAGTGAGGAGACAATTACACCTTGGAATTTTGAGGAG GTGGTGGATAAGGGAGCTAGTGCTCAGAGTTTTATTGAGAGAATGACAAATTTTGATAAGAATTTGCCTAATGAGAAGGTGTTGCCTAAG CATAGTTTGTTGTATGAGTATTTTACAGTGTATAATGAGTTGACAAAGGTGAAGTATGTGACAGAGGGAATGAGAAAGCCTGCTTTTTTG AGTGGAGAGCAGAAGAAGGCTATTGTGGATTTGTTGTTTAAGACAAATAGAAAGGTGACAGTGAAGCAGTTGAAGGAGGATTATTTTAAG AAGATTGAGTGTTTTGATAGTGTGGAGATTAGTGGAGTGGAGGATAGATTTAATGCTAGTTTGGGAACATATCATGATTTGTTGAAGATT ATTAAGGATAAGGATTTTTTGGATAATGAGGAGAATGAGGATATTTTGGAGGATATTGTGTTGACATTGACATTGTTTGAGGATAGAGAG ATGATTGAGGAGAGATTGAAGACATATGCTCATTTGTTTGATGATAAGGTGATGAAGCAGTTGAAGAGAAGAAGATATACAGGATGGGGA AGATTGAGTAGAAAGTTGATTAATGGAATTAGAGATAAGCAGAGTGGAAAGACAATTTTGGATTTTTTGAAGAGTGATGGATTTGCTAAT AGAAATTTTATGCAGTTGATTCATGATGATAGTTTGACATTTAAGGAGGATATTCAGAAGGCTCAGGTGAGTGGACAGGGAGATAGTTTG CATGAGCATATTGCTAATTTGGCTGGAAGTCCTGCTATTAAGAAGGGAATTTTGCAGACAGTGAAGGTGGTGGATGAGTTGGTGAAGGTG ATGGGAAGACATAAGCCTGAGAATATTGTGATTGAGATGGCTAGAGAGAATCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAATAGTAGAGAGAGA ATGAAGAGAATTGAGGAGGGAATTAAGGAGTTGGGAAGTCAGATTTTGAAGGAGCATCCTGTGGAGAATACACAGTTGCAGAATGAGAAG TTGTATTTGTATTATTTGCAGAATGGAAGAGATATGTATGTGGATCAGGAGTTGGATATTAATAGATTGAGTGATTATGATGTGGATCAT ATTGTGCCTCAGAGTTTTTTGAAGGATGATAGTATTGATAATAAGGTGTTGACAAGAAGTGATAAGAATAGAGGAAAGAGTGATAATGTG CCTAGTGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAATTATTGGAGACAGTTGTTGAATGCTAAGTTGATTACACAGAGAAAGTTTGATAATTTG ACAAAGGCTGAGAGAGGAGGATTGAGTGAGTTGGATAAGGCTGGATTTATTAAGAGACAGTTGGTGGAGACAAGACAGATTACAAAGCAT	110

	GTGGCTCAGATTTTGGATAGTAGAATGAATACAAAGTATGATGAGAATGATAAGTTGATTAGAGAGGTGAAGGTGATTACATTGAAGAGT AAGTTGGTGAGTGATTTTAGAAAGGATTTTCAGTTTTATAAGGTGAGAGAGATTAATAATTATCATCATGCTCATGATGCTTATTTGAAT GCTGTGGTGGGAACAGCTTTGATTAAGAAGTATCCTAAGTTGGAGAGTGAGTTTGTGTATGGAGATTATAAGGTGTATGATGTGAGAAAG ATGATTGCTAAGAGTGAGCAGGAGATTGGAAAGGCTACAGCTAAGTATTTTTTTTATAGTAATATTATGAATTTTTTTAAGACAGAGATT ACATTGGCTAATGGAGAGATTAGAAAGAGACCTTTGATTGAGACAAATGGAGAGACAGGAGAGATTGTGTGGGATAAGGGAAGAGATTTT GCTACAGTGAGAAAGGTGTTGAGTATGCCTCAGGTGAATATTGTGAAGAAGACAGAGGTGCAGACAGGAGGATTTAGTAAGGAGAGTATT TTGCCTAAGAGAAATAGTGATAAGTTGATTGCTAGAAAGAAGGATTGGGATCCTAAGAAGTATGGAGGATTTGATAGTCCTACAGTGGCT TATAGTGTGTTGGTGGTGGCTAAGGTGGAGAAGGGAAAGAGTAAGAAGTTGAAGAGTGTGAAGGAGTTGTTGGGAATTACAATTATGGAG AGAAGTAGTTTTGAGAAGAATCCTATTGATTTTTTGGAGGCTAAGGGATATAAGGAGGTGAAGAAGGATTTGATTATTAAGTTGCCTAAG TATAGTTTGTTTGAGTTGGAGAATGGAAGAAAGAGAATGTTGGCTAGTGCTGGAGAGTTGCAGAAGGGAAATGAGTTGGCTTTGCCTAGT AAGTATGTGAATTTTTTGTATTTGGCTAGTCATTATGAGAAGTTGAAGGGAAGTCCTGAGGATAATGAGCAGAAGCAGTTGTTTGTGGAG CAGCATAAGCATTATTTGGATGAGATTATTGAGCAGATTAGTGAGTTTAGTAAGAGAGTGATTTTGGCTGATGCTAATTTGGATAAGGTG TTGAGTGCTTATAATAAGCATAGAGATAAGCCTATTAGAGAGCAGGCTGAGAATATTATTCATTTGTTTACATTGACAAATTTGGGAGCT CCTGCTGCTTTTAAGTATTTTGATACAACAATTGATAGAAAGAGATATACAAGTACAAAGGAGGTGTTGGATGCTACATTGATTCATCAG AGTATTACAGGATTGTATGAGACAAGAATTGATTTGAGTCAGTTGGGAGGAGATGGAGGAGGAAGTCCTAAGAAGAAGAGAAAGGTGTGA	
Cas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATC CTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG TCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC	111

	ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTG CCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCC AAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATC CTGCCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCC TACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG TCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA	
Cas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACC	112

	TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATC CTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG AGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTG CCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGC AAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATC CTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCC TACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGAGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC	

	CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG AGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA	
Cas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS y codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATC CTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG TCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTG CCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC	113

	GTGGCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCC AAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATC CTGCCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCC TACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG TCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCTCCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAC GGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACTCCGGCTGA	
Cas9 nickasa ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATC CTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG TCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG	114

	AAGATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTG CCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCC AAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATC CTGCCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCC TACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG TCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA	
Cas9 nickasa ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada y no NLS	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC	115

	CTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATC CTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG TCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTG CCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCC AAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATC CTGCCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCC TACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG	

	CTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG TCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACTGA	
Cas9 nickasa ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS y codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATC CTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG TCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTG CCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC	116

	GTGGCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCC AAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATC CTGCCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCC TACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG TCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCTCCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAC GGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACTCCGGCTGA	
dCas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATC CTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG TCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG	117

	AAGATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACGCC ATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTG CCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCC AAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATC CTGCCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCC TACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG TCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA	
dCas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada y no NLS	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC	118

	CTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATC CTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG TCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACGCC ATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTG CCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCC AAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATC CTGCCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCC TACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG	

	CTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG TCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACTGA	
dCas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS y codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATC CTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG TCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACGCC ATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTG CCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC	**119**

	GTGGCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCC AAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATC CTGCCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCC TACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGTCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACTCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG TCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCTCCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAC GGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACTCCGGCTGA	
Cas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS y codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATC CTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG AGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG	120

	AAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTG CCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGC AAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATC CTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCC TACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGAGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG AGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCAGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAC GGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACAGCGGCTGA	
Cas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada y no NLS	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCC	121

	ATCCTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATC CTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG AGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTG CCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGC AAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATC CTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCC TACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG	

	CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGAGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG AGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACTGA	
Cas9 nickasa ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATC CTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG AGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTG CCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC	122

	GTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGC AAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATC CTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCC TACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGAGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG AGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA	
Cas9 nickasa ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS y codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATC CTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG AGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC	123

	ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTG CCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGC AAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATC CTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCC TACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGAGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG AGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCAGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAC GGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACAGCGGCTGA	
Cas9 nickasa ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada y no NLS	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGcCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC	124

	CTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATC CTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG AGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTG CCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGC AAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATC CTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCC TACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG	

	CTGAGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG AGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACTGA	
dCas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGcCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATC CTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG AGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACgcC ATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTG CCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC	125

	GTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGC AAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATC CTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCC TACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGAGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG AGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA	
dCas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS y codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATC CTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG AGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC	126

	ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACGCC ATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTG CCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGC AAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATC CTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCC TACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGAGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG AGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCAGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAC GGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACAGCGGCTGA	

dCas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada y no NLS	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGcCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAG AAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAG GCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATG GCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGC AACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGAC GTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCC ATCCTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAAC CTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACC TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATC CTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAG GACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCC GGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTG GTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTAC TACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAG CACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTG AGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAG AAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAG ATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGC CGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAAC CGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTG CACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTG ATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGG ATGAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACgcC ATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTG CCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCAC GTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGC AAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAAC GCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAG ATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATC	127

	ACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTC GCCACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATC CTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCC TACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAG CGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAG TACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGC AAGTACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTG CTGAGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCC CCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAG AGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACTGA	
Nme Cas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACTCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGAC GAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATG GCCCGGCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGACCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGC GTGCTGCAGGCCGCCAACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGG AAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACC GCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCGGCAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTG GCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGTCCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCC GAGCTGATCCTGCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATG ACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAAC ACCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACCGACACC GAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCC TTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTG GAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCCCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAG ACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTC GTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGC GACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCC CTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGC AAGTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTAC TTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGC AAGGAGATCAACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTC AACAACAAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACTCCCGG GAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGAC GGCTTCAAGGAGCGGAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGGATGCGGCTGACCGGCAAG GGCAAGAAGCGGGTGTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGAC	128

	CGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATG AACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCC CAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCTGGAGAAGCTGCGGACCCTGCTG GCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGC CAGGGCCACATGGAGACCGTGAAGTCCGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGTCCGTGCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAGCTGAAG GACCTGGAGAAGATGGTGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGACCCCGCC AAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACAAGTACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGCAGAAG ACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACAACGGCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCGGGTGGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTACTAC CTGGTGCCCATCTACTCCTGGCAGGTGGCCAAGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGTGCAGGGCAAGGACGAGGAGGACTGGCAGCTG ATCGACGACTCCTTCAACTTCAAGTTCTCCCTGCACCCCAACGACCTGGTGGAGGTGATCACCAAGAAGGCCCGGATGTTCGGCTACTTC GCCTCCTGCCACCGGGGCACCGGCAACATCAACATCCGGATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGCAAGAACGGCATCCTGGAGGGCATC GGCGTGAAGACCGCCCTGTCCTTCCAGAAGTACCAGATCGACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCC GTGCGGTCCGGCAAGCGGACCGCCGACGGCTCCGAGTTCGAGTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGTGA	
Nme Cas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con codones de inicio y de parada	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACAGCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCAGCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGAC GAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACAGCCTGGCCATG GCCCGGCGGCTGGCCCGGAGCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGACCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGC GTGCTGCAGGCCGCCAACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGAGCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGG AAGCTGACCCCCCTGGAGTGGAGCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGAGCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACC GCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCGGCAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTG GCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGAGCGGCCACATCCGGAACCAGCGGAGCGACTACAGCCACACCTTCAGCCGGAAGGACCTGCAGGCC GAGCTGATCCTGCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGAGCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATG ACCCAGCGGCCCGCCCTGAGCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAAC ACCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCAGCGAGCGGCCCCTGACCGACACC GAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGAGCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCC TTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCAGCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCAGCCGGGCCCTG GAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGAGCCCCCTGAACCTGAGCCCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCAGCCTGTTCAAG ACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCAGCTTCGACAAGTTC GTGCAGATCAGCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGC GACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCC CTGAGCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCAGCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGC AAGAGCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTAC TTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGAGCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACAGCGGC AAGGAGATCAACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCAGCCGGACCTGGGACGACAGCTTC AACAACAAGGTGCTGGTGCTGGGCAGCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACAGCCGG GAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCAGCCGGTTCCCCCGGAGCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGAC	129

	GGCTTCAAGGAGCGGAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGGATGCGGCTGACCGGCAAG GGCAAGAAGCGGGTGTTCGCCAGCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGAC CGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCAGCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATG AACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCC CAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCTGGAGAAGCTGCGGACCCTGCTG GCCGAGAAGCTGAGCAGCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTGAGCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGAGCGGC CAGGGCCACATGGAGACCGTGAAGAGCGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGAGCGTGCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAGCTGAAG GACCTGGAGAAGATGGTGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGACCCCGCC AAGGCCTTCGCCGAGCCCTTCTACAAGTACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGCAGAAG ACCGGCGTGTGGGTGCGGAACCACAACGGCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCGGGTGGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTACTAC CTGGTGCCCATCTACAGCTGGCAGGTGGCCAAGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGTGCAGGGCAAGGACGAGGAGGACTGGCAGCTG ATCGACGACAGCTTCAACTTCAAGTTCAGCCTGCACCCCAACGACCTGGTGGAGGTGATCACCAAGAAGGCCCGGATGTTCGGCTACTTC GCCAGCTGCCACCGGGGCACCGGCAACATCAACATCCGGATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGCAAGAACGGCATCCTGGAGGGCATC GGCGTGAAGACCGCCCTGAGCTTCCAGAAGTACCAGATCGACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCC GTGCGGAGCGGCAAGCGGACCGCCGACGGCAGCGAGTTCGAGAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGTGA	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS1, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAG AAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA GCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATG GCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGAC GTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAAC CTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACA TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATC CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAG GACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCA GGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTG GTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTAC TACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAA GTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAG CACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTG AGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATC	130

	ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAA ATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGA AGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAAC AGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTC ATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGA ATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTC CCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCAC GTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGC AAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAAC GCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG ATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATC ACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTC GCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATC CTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCA TACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAG TACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGC AAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTC CTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAG AGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCTGGCAGCAAAGAGAAGCAGAACA ACATAG	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS2, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAG AAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA GCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATG GCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGAC GTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAAC	131

	CTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACA TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATC CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAG GACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCA GGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTG GTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTAC TACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAA GTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAG CACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTG AGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAA ATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGA AGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAAC AGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTC ATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGA ATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTC CCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCAC GTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGC AAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAAC GCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG ATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATC ACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTC GCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATC CTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCA TACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAG TACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGC AAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTC	

	CTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAG AGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCAGGCAGCAAAGAGAAGCAGAACA ACATAG	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS3, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAG AAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA GCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATG GCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGAC GTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAAC CTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACA TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATC CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAG GACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCA GGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTG GTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTAC TACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAA GTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAG CACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTG AGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAA ATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGA AGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAAC AGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTC ATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGA ATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG	132

	CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTC CCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCAC GTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGC AAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAAC GCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG ATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATC ACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTC GCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATC CTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCA TACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAG TACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGC AAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTC CTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAG AGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGGCACCGGCAAAGAGAGAAAGA ACAACATAG	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS4, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAG AAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA GCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATG GCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGAC GTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAAC CTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACA TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATC CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAG GACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCA GGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTG GTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTAC	133

	TACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAA GTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAG CACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTG AGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAA ATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGA AGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAAC AGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTC ATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGA ATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTC CCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCAC GTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGC AAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAAC GCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG ATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATC ACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTC GCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATC CTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCA TACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAG TACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGC AAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTC CTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAG AGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCAGGCAGCAAAGAGACCGAGAACA ACATAG	

Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS5, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAG AAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA GCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATG GCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGAC GTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAAC CTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACA TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATC CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAG GACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCA GGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTG GTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTAC TACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAA GTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAG CACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTG AGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAA ATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGA AGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAAC AGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTC ATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGA ATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTC CCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCAC GTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGC AAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAAC GCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG ATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATC	134

	ACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTC GCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATC CTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCA TACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAG TACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGC AAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTC CTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAG AGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCAGAGCAGCAAAGAGACCGAGAACA ACATAG	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS6, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAG AAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA GCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATG GCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGAC GTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAAC CTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACA TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATC CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAG GACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCA GGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTG GTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTAC TACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAA GTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAG CACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTG AGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAA ATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGA AGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAAC	135

	AGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTC ATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGA ATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTC CCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCAC GTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGC AAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAAC GCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG ATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATC ACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTC GCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATC CTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCA TACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAG TACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGC AAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTC CTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAG AGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCGCAGCAGCAAAGAGAAGCTGGAGC ATGGCAGCATAG	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS7, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAG AAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA GCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATG GCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGAC GTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAAC CTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACA TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATC CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAG	136

GACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCA
GGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTG
GTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC
GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTAC
TACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAA
GTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAG
CACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTG
AGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG
AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATC
ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAA
ATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGA
AGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAAC
AGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG
CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTC
ATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGA
ATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG
CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC
ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTC
CCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG
ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCAC
GTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGC
AAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAAC
GCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG
ATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATC
ACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTC
GCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATC
CTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCA
TACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA
AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAG
TACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGC
AAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA
CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTC
CTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA
CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAG
AGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCGCAGCAGCAAAGAGAGTCTGGAGC

	ATGGCATTCTAG	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS8, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAG AAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA GCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATG GCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGAC GTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAAC CTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACA TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATC CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAG GACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCA GGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTG GTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTAC TACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAA GTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAG CACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTG AGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAA ATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGA AGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAAC AGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTC ATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGA ATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG	137

	CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTC CCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCAC GTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGC AAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAAC GCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG ATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATC ACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTC GCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATC CTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCA TACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAG TACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGC AAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTC CTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAG AGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCGCAGCAGCAAAGAGAAGCTGGAGC ATGGCATTCTAG	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS9, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAG AAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA GCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATG GCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGAC GTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAAC CTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACA TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATC CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAG GACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCA GGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTG GTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTAC	138

	TACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAA GTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAG CACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTG AGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAA ATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGA AGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAAC AGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTC ATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGA ATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTC CCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCAC GTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGC AAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAAC GCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG ATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATC ACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTC GCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATC CTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCA TACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAG TACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGC AAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTC CTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAG AGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCGCAGCAGCAAAGAGAAAGTACTTC GCAGCATAG	

Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS10, con codones de inicio y de parada	**ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAG** **AAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA** **GCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATG** **GCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA** **AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGAC** **CTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGAC** **GTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA** **ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAAC** **CTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACA** **TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATC** **CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAG** **GACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCA** **GGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTG** **GTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC** **GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTAC** **TACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAA** **GTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAG** **CACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTG** **AGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG** **AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATC** **ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAA** **ATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGA** **AGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAAC** **AGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG** **CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTC** **ATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGA** **ATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG** **CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC** **ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTC** **CCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG** **ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCAC** **GTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGC** **AAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAAC** **GCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG** **ATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATC**	**139**

	ACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTC GCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATC CTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCA TACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAG TACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGC AAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTC CTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAG AGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCAGAGCAGCAAAGAGAAAGGCATTC GCAGCATAG	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS11, con codones de inicio y de parada	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAG AAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAA GCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATG GCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGA AACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGAC CTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGAC GTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCA ATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAAC CTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACA TACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATC CTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAG GACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCA GGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTG GTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTAC TACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAA GTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAG CACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTG AGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAG AAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATC ATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAA ATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGA AGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAAC	140

	AGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTG CACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTC ATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGA ATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAG CTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTC CCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTG ACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCAC GTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGC AAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAAC GCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAG ATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATC ACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTC GCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATC CTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCA TACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAA AGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAG TACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGC AAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTC CTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCA CCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAG AGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCAGAGCAGCAAAGAGAAAGTACTTC GCAGTCTAG	
Cas9 ORF usando codones con expresión generalmente alta en humanos (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	CCTAAGAAAAAGCGGAAGGTCGACGGGGATAAGAAGTACTCAATCGGGCTGGATATCGGAACTAATTCCGTGGGTTGGGCAGTGATCACG GATGAATACAAAGTGCCGTCCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGGAACACCGATAGACACAGCATCAAGAAAAATCTCATCGGAGCCCTGCTG TTTGACTCCGGCGAAACCGCAGAAGCGACCCGGCTCAAACGTACCGCGAGGCGACGCTACACCCGGCGGAAGAATCGCATCTGCTATCTG CAAGAGATCTTTTCGAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACCGCCTGGAAGAATCTTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAG CATGAACGGCATCCTATCTTTGGAAACATCGTCGACGAAGTGGCGTACCACGAAAAGTACCCGACCATCTACCATCTGCGGAAGAAGTTG GTTGACTCAACTGACAAGGCCGACCTCAGATTGATCTACTTGGCCCTCGCCCATATGATCAAATTCCGCGGACACTTCCTGATCGAAGGC GATCTGAACCCTGATAACTCCGACGTGGATAAGCTTTTCATTCAACTGGTGCAGACCTACAACCAACTGTTCGAAGAAAACCCAATCAAT GCTAGCGGCGTCGATGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGGCTGTCGAAGTCGCGGCGCCTCGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAG AAAAAGAACGGACTTTTCGGCAACTTGATCGCTCTCTCACTGGGACTCACTCCCAATTTCAAGTCCAATTTTGACCTGGCCGAGGACGCG AAGCTGCAACTCTCAAAGGACACCTACGACGACGACTTGGACAATTTGCTGGCACAAATTGGCGATCAGTACGCGGATCTGTTCCTTGCC GCTAAGAACCTTTCGGACGCAATCTTGCTGTCCGATATCCTGCGCGTGAACACCGAAATAACCAAAGCGCCGCTTAGCGCCTCGATGATT	141

	AAGCGGTACGACGAGCATCACCAGGATCTCACGCTGCTCAAAGCGCTCGTGAGACAGCAACTGCCTGAAAAGTACAAGGAGATCTTCTTC GACCAGTCCAAGAATGGGTACGCAGGGTACATCGATGGAGGCGCTAGCCAGGAAGAGTTCTATAAGTTCATCAAGCCAATCCTGGAAAAG ATGGACGGAACCGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGGGAGGATCTGCTCCGGAAACAGAGAACCTTTGACAACGGATCCATTCCCCAC CAGATCCATCTGGGTGAGCTGCACGCCATCTTGCGGCGCCAGGAGGACTTTTACCCATTCCTCAAGGACAACCGGGAAAAGATCGAGAAA ATTCTGACGTTCCGCATCCCGTATTACGTGGGCCCACTGGCGCGCGGCAATTCGCGCTTCGCGTGGATGACTAGAAAATCAGAGGAAACC ATCACTCCTTGGAATTTCGAGGAAGTTGTGGATAAGGGAGCTTCGGCACAAAGCTTCATCGAACGAATGACCAACTTCGACAAGAATCTC CCAAACGAGAAGGTGCTTCCTAAGCACAGCCTCCTTTACGAATACTTCACTGTCTACAACGAACTGACTAAAGTGAAATACGTTACTGAA GGAATGAGGAAGCCGGCCTTTCTGTCCGGAGAACAGAAGAAAGCAATTGTCGATCTGCTGTTCAAGACCAACCGCAAGGTGACCGTCAAG CAGCTTAAAGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGTTTCGACTCAGTGGAAATCAGCGGGGTGGAGGACAGATTCAACGCTTCGCTGGGA ACCTATCATGATCTCCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTTGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAAGATATCGTCCTGACC TTGACCCTTTTCGAGGATCGCGAGATGATCGAGGAGAGGCTTAAGACCTACGCTCATCTCTTCGACGATAAGGTCATGAAACAACTCAAG CGCCGCCGGTACACTGGTTGGGGCCGCCTCTCCCGCAAGCTGATCAACGGTATTCGCGATAAACAGAGCGGTAAAACTATCCTGGATTTC CTCAAATCGGATGGCTTCGCTAATCGTAACTTCATGCAATTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTTAAGGAGGACATCCAAAAAGCACAA GTGTCCGGACAGGGAGACTCACTCCATGAACACATCGCGAATCTGGCCGGTTCGCCGGCGATTAAGAAGGGAATTCTGCAAACTGTGAAG GTGGTCGACGAGCTGGTGAAGGTCATGGGACGGCACAAACCGGAGAATATCGTGATTGAAATGGCCCGAGAAAACCAGACTACCCAGAAG GGCCAGAAAAACTCCCGCGAAAGGATGAAGCGGATCGAAGAAGGAATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAAGAGCACCCGGTGGAA AACACGCAGCTGCAGAACGAGAAGCTCTACCTGTACTATTTGCAAAATGGACGGGACATGTACGTGGACCAAGAGCTGGACATCAATCGG TTGTCTGATTACGACGTGGACCACATCGTTCCACAGTCCTTTCTGAAGGATGACTCGATCGATAACAAGGTGTTGACTCGCAGCGACAAG AACAGAGGGAAGTCAGATAATGTGCCATCGGAGGAGGTCGTGAAGAAGATGAAGAATTACTGGCGGCAGCTCCTGAATGCGAAGCTGATT ACCCAGAGAAAGTTTGACAATCTCACTAAAGCCGAGCGCGGCGGACTCTCAGAGCTGGATAAGGCTGGATTCATCAAACGGCAGCTGGTC GAGACTCGGCAGATTACCAAGCACGTGGCGCAGATCTTGGACTCCCGCATGAACACTAAATACGACGAGAACGATAAGCTCATCCGGGAA GTGAAGGTGATTACCCTGAAAAGCAAACTTGTGTCGGACTTTCGGAAGGACTTTCAGTTTTACAAAGTGAGAGAAATCAACAACTACCAT CACGCGCATGACGCATACCTCAACGCTGTGGTCGGTACCGCCCTGATCAAAAAGTACCCTAAACTTGAATCGGAGTTTGTGTACGGAGAC TACAAGGTCTACGACGTGAGGAAGATGATAGCCAAGTCCGAACAGGAAATCGGGAAAGCAACTGCGAAATACTTCTTTTACTCAAACATC ATGAACTTTTTCAAGACTGAAATTACGCTGGCCAATGGAGAAATCAGGAAGAGGCCACTGATCGAAACTAACGGAGAAACGGGCGAAATC GTGTGGGACAAGGGCAGGGACTTCGCAACTGTTCGCAAAGTGCTCTCTATGCCGCAAGTCAATATTGTGAAGAAAACCGAAGTGCAAACC GGCGGATTTTCAAAGGAATCGATCCTCCCAAAGAGAAATAGCGACAAGCTCATTGCACGCAAGAAAGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGA GGATTCGATTCGCCGACTGTCGCATACTCCGTCCTCGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGAAAGAGCAAAAAGCTCAAATCCGTCAAAGAG CTGCTGGGGATTACCATCATGGAACGATCCTCGTTCGAGAAGAACCCGATTGATTTCCTCGAGGCGAAGGGTTACAAGGAGGTGAAGAAG GATCTGATCATCAAACTCCCCAAGTACTCACTGTTCGAACTGGAAAATGGTCGGAAGCGCATGCTGGCTTCGGCCGGAGAACTCCAAAAA GGAAATGAGCTGGCCTTGCCTAGCAAGTACGTCAACTTCCTCTATCTTGCTTCGCACTACGAAAAACTCAAAGGGTCACCGGAAGATAAC GAACAGAAGCAGCTTTTCGTGGAGCAGCACAAGCATTATCTGGATGAAATCATCGAACAAATCTCCGAGTTTTCAAAGCGCGTGATCCTC GCCGACGCCAACCTCGACAAAGTCCTGTCGGCCTACAATAAGCATAGAGATAAGCCGATCAGAGAACAGGCCGAGAACATTATCCACTTG TTCACCCTGACTAACCTGGGAGCCCCAGCCGCCTTCAAGTACTTCGATACTACTATCGATCGCAAAAGATACACGTCCACCAAGGAAGTT CTGGACGCGACCCTGATCCACCAAAGCATCACTGGACTCTACGAAACTAGGATCGATCTGTCGCAGCTGGGTGGCGAT	

Cas9 ORF usando codones de larga vida media de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	**GACAAGAAGTACTCTATCGGTTTGGACATCGGTACCAACTCTGTCGGTTGGGCCGTCATCACCGACGAATACAAGGTCCCATCTAAGAAG** **TTCAAGGTCTTGGGTAACACCGACAGACACTCTATCAAGAAGAACTTGATCGGTGCCTTGTTGTTCGACTCTGGTGAAACCGCCGAAGCC** **ACCAGATTGAAGAGAACCGCCAGAAGAAGATACACCAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACTTGCAAGAAATCTTCTCTAACGAAATGGCC** **AAGGTCGACGACTCTTTCTTCCACAGATTGGAAGAATCTTTCTTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCAATCTTCGGTAAC** **ATCGTCGACGAAGTCGCCTACCACGAAAAGTACCCAACCATCTACCACTTGAGAAAGAAGTTGGTCGACTCTACCGACAAGGCCGACTTG** **AGATTGATCTACTTGGCCTTGGCCCACATGATCAAGTTCAGAGGTCACTTCTTGATCGAAGGTGACTTGAACCCAGACAACTCTGACGTC** **GACAAGTTGTTCATCCAATTGGTCCAAACCTACAACCAATTGTTCGAAGAAAACCCAATCAACGCCTCTGGTGTCGACGCCAAGGCCATC** **TTGTCTGCCAGATTGTCTAAGAGCAGAAGATTGGAAAACTTGATCGCCCAATTGCCAGGTGAAAAGAAGAACGGTTTGTTCGGTAACTTG** **ATCGCCTTGTCTTTGGGTTTGACCCCAAACTTCAAGTCTAACTTCGACTTGGCCGAAGACGCCAAGTTGCAATTGTCTAAGGACACCTAC** **GACGACGACTTGGACAACTTGTTGGCCCAAATCGGTGACCAATACGCCGACTTGTTCTTGGCCGCCAAGAACTTGTCTGACGCCATCTTG** **TTGTCTGACATCTTGAGAGTCAACACCGAAATCACCAAGGCCCCATTGTCTGCCTCTATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAAGAC** **TTGACCTTGTTGAAGGCCTTGGTCAGACAACAATTGCCAGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAATCTAAGAACGGTTACGCCGGT** **TACATCGACGGTGGTGCCTCTCAAGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCAATCTTGGAAAAGATGGACGGTACCGAAGAATTGTTGGTC** **AAGTTGAACAGAGAAGACTTGTTGAGAAAGCAAAGAACCTTCGACAACGGTTCTATCCCACACCAAATCCACTTGGGTGAATTGCACGCC** **ATCTTGAGAAGACAAGAAGACTTCTACCCATTCTTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCTTGACCTTCAGAATCCCATACTAC** **GTCGGTCCATTGGCCAGAGGTAACAGCAGATTCGCCTGGATGACCAGAAAGTCTGAAGAAACCATCACCCCATGGAACTTCGAAGAAGTC** **GTCGACAAGGGTGCCTCTGCCCAATCTTTCATCGAAAGAATGACCAACTTCGACAAGAACTTGCCAAACGAAAAGGTCTTGCCAAAGCAC** **TCTTTGTTGTACGAATACTTCACCGTCTACAACGAATTGACCAAGGTCAAGTACGTCACCGAAGGTATGAGAAAGCCAGCCTTCTTGTCT** **GGTGAACAAAAGAAGGCCATCGTCGACTTGTTGTTCAAGACCAACAGAAAGGTCACCGTCAAGCAATTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG** **ATCGAATGCTTCGACTCTGTCGAAATCTCTGGTGTCGAAGACAGATTCAACGCCTCTTTGGGTACCTACCACGACTTGTTGAAGATCATC** **AAGGACAAGGACTTCTTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCTTGGAAGACATCGTCTTGACCTTGACCTTGTTCGAAGACAGAGAAATG** **ATCGAAGAAAGATTGAAGACCTACGCCCACTTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAATTGAAGAGAAGAAGATACACCGGTTGGGGTAGA** **TTGAGCAGAAAGTTGATCAACGGTATCAGAGACAAGCAATCTGGTAAGACCATCTTGGACTTCTTGAAGTCTGACGGTTTCGCCAACAGA** **AACTTCATGCAATTGATCCACGACGACTCTTTGACCTTCAAGGAAGACATCCAAAAGGCCCAAGTCTCTGGTCAAGGTGACTCTTTGCAC** **GAACACATCGCCAACTTGGCCGGTTCTCCAGCCATCAAGAAGGGTATCTTGCAAACCGTCAAGGTCGTCGACGAATTGGTCAAGGTCATG** **GGTAGACACAAGCCAGAAAACATCGTCATCGAAATGGCCAGAGAAAACCAAACCACCCAAAAGGGTCAAAAGAACAGCAGAGAAAGAATG** **AAGAGAATCGAAGAAGGTATCAAGGAATTGGGTTCTCAAATCTTGAAGGAACACCCAGTCGAAAACACCCAATTGCAAAACGAAAAGTTG** **TACTTGTACTACTTGCAAAACGGTAGAGACATGTACGTCGACCAAGAATTGGACATCAACAGATTGTCTGACTACGACGTCGACCACATC** **GTCCCACAATCTTTCTTGAAGGACGACTCTATCGACAACAAGGTCTTGACCAGATCTGACAAGAACAGAGGTAAGTCTGACAACGTCCCA** **TCTGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAATTGTTGAACGCCAAGTTGATCACCCAAAGAAAGTTCGACAACTTGACC** **AAGGCCGAAAGAGGTGGTTTGTCTGAATTGGACAAGGCCGGTTTCATCAAGAGACAATTGGTCGAAACCAGACAAATCACCAAGCACGTC** **GCCCAAATCTTGGACAGCAGAATGAACACCAAGTACGACGAAAACGACAAGTTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACCTTGAAGTCTAAG** **TTGGTCTCTGACTTCAGAAAGGACTTCCAATTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACTTGAACGCC** **GTCGTCGGTACCGCCTTGATCAAGAAGTACCCAAAGTTGGAATCTGAATTCGTCTACGGTGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG** **ATCGCCAAGTCTGAACAAGAAATCGGTAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCTAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAAATCACC**	**142**

	TTGGCCAACGGTGAAATCAGAAAGAGACCATTGATCGAAACCAACGGTGAAACCGGTGAAATCGTCTGGGACAAGGGTAGAGACTTCGCC ACCGTCAGAAAGGTCTTGTCTATGCCACAAGTCAACATCGTCAAGAAGACCGAAGTCCAAACCGGTGGTTTCTCTAAGGAATCTATCTTG CCAAAGAGAAACTCTGACAAGTTGATCGCCAGAAAGAAGGACTGGGACCCAAAGAAGTACGGTGGTTTCGACTCTCCAACCGTCGCCTAC TCTGTCTTGGTCGTCGCCAAGGTCGAAAAGGGTAAGTCTAAGAAGTTGAAGTCTGTCAAGGAATTGTTGGGTATCACCATCATGGAAAGA TCTTCTTTCGAAAAGAACCCAATCGACTTCTTGGAAGCCAAGGGTTACAAGGAAGTCAAGAAGGACTTGATCATCAAGTTGCCAAAGTAC TCTTTGTTCGAATTGGAAAACGGTAGAAAGAGAATGTTGGCCTCTGCCGGTGAATTGCAAAAGGGTAACGAATTGGCCTTGCCATCTAAG TACGTCAACTTCTTGTACTTGGCCTCTCACTACGAAAAGTTGAAGGGTTCTCCAGAAGACAACGAACAAAAGCAATTGTTCGTCGAACAA CACAAGCACTACTTGGACGAAATCATCGAACAAATCTCTGAATTCTCTAAGAGAGTCATCTTGGCCGACGCCAACTTGGACAAGGTCTTG TCTGCCTACAACAAGCACAGAGACAAGCCAATCAGAGAACAAGCCGAAAACATCATCCACTTGTTCACCTTGACCAACTTGGGTGCCCCA GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACAGAAAGAGATACACCTCTACCAAGGAAGTCTTGGACGCCACCTTGATCCACCAATCT ATCACCGGTTTGTACGAAACCAGAATCGACTTGTCTCAATTGGGTGGTGACGGTGGTGGTTCTCCAAAGAAGAAGAGAAAGGTC	
Cas9 ORF usando codones ricos en U de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GATAAAAAATATTCTATTGGTTTAGATATTGGTACTAATTCTGTTGGTTGGGCTGTTATTACTGATGAATATAAAGTTCCTTCTAAAAAA TTTAAAGTTTTAGGTAATACTGATCGTCATTCTATTAAAAAAAATTTAATTGGTGCTTTATTATTTGATTCTGGTGAAACTGCTGAAGCT ACTCGTTTAAAACGTACTGCTCGTCGTCGTTATACTCGTCGTAAAAATCGTATTTGTTATTTACAAGAAATTTTTTCTAATGAAATGGCT AAAGTTGATGATTCTTTTTTTCATCGTTTAGAAGAATCTTTTTTAGTTGAAGAAGATAAAAAACATGAACGTCATCCTATTTTTGGTAAT ATTGTTGATGAAGTTGCTTATCATGAAAAATATCCTACTATTTATCATTTACGTAAAAAATTAGTTGATTCTACTGATAAAGCTGATTTA CGTTTAATTTATTTAGCTTTAGCTCATATGATTAAATTTCGTGGTCATTTTTTAATTGAAGGTGATTTAAATCCTGATAATTCTGATGTT GATAAATTATTTATTCAATTAGTTCAAACTTATAATCAATTATTTGAAGAAAATCCTATTAATGCTTCTGGTGTTGATGCTAAAGCTATT TTATCTGCTCGTTTATCTAAATCTCGTCGTTTAGAAAATTTAATTGCTCAATTACCTGGTGAAAAAAAAAATGGTTTATTTGGTAATTTA ATTGCTTTATCTTTAGGTTTAACTCCTAATTTTAAATCTAATTTTGATTTAGCTGAAGATGCTAAATTACAATTATCTAAAGATACTTAT GATGATGATTTAGATAATTTATTAGCTCAAATTGGTGATCAATATGCTGATTTATTTTTAGCTGCTAAAAATTTATCTGATGCTATTTTA TTATCTGATATTTTACGTGTTAATACTGAAATTACTAAAGCTCCTTTATCTGCTTCTATGATTAAACGTTATGATGAACATCATCAAGAT TTAACTTTATTAAAAGCTTTAGTTCGTCAACAATTACCTGAAAAATATAAAGAAATTTTTTTTGATCAATCTAAAAATGGTTATGCTGGT TATATTGATGGTGGTGCTTCTCAAGAAGAATTTTATAAATTTATTAAACCTATTTTAGAAAAAATGGATGGTACTGAAGAATTATTAGTT AAATTAAATCGTGAAGATTTATTACGTAAACAACGTACTTTTGATAATGGTTCTATTCCTCATCAAATTCATTTAGGTGAATTACATGCT ATTTTACGTCGTCAAGAAGATTTTTATCCTTTTTTAAAAGATAATCGTGAAAAAATTGAAAAAATTTTAACTTTTCGTATTCCTTATTAT GTTGGTCCTTTAGCTCGTGGTAATTCTCGTTTTGCTTGGATGACTCGTAAATCTGAAGAAACTATTACTCCTTGGAATTTTGAAGAAGTT GTTGATAAAGGTGCTTCTGCTCAATCTTTTATTGAACGTATGACTAATTTTGATAAAAATTTACCTAATGAAAAAGTTTTACCTAAACAT TCTTTATTATATGAATATTTTACTGTTTATAATGAATTAACTAAAGTTAAATATGTTACTGAAGGTATGCGTAAACCTGCTTTTTTATCT GGTGAACAAAAAAAAGCTATTGTTGATTTATTATTTAAAACTAATCGTAAAGTTACTGTTAAACAATTAAAAGAAGATTATTTTAAAAAA ATTGAATGTTTTGATTCTGTTGAAATTTCTGGTGTTGAAGATCGTTTTAATGCTTCTTTAGGTACTTATCATGATTTATTAAAAATTATT AAAGATAAAGATTTTTTAGATAATGAAGAAAATGAAGATATTTTAGAAGATATTGTTTTAACTTTAACTTTATTTGAAGATCGTGAAATG ATTGAAGAACGTTTAAAAACTTATGCTCATTTATTTGATGATAAAGTTATGAAACAATTAAAACGTCGTCGTTATACTGGTTGGGGTCGT TTATCTCGTAAATTAATTAATGGTATTCGTGATAAACAATCTGGTAAAACTATTTTAGATTTTTTAAAATCTGATGGTTTTGCTAATCGT AATTTTATGCAATTAATTCATGATGATTCTTTAACTTTTAAAGAAGATATTCAAAAAGCTCAAGTTTCTGGTCAAGGTGATTCTTTACAT	143

	GAACATATTGCTAATTTAGCTGGTTCTCCTGCTATTAAAAAAGGTATTTTACAAACTGTTAAAGTTGTTGATGAATTAGTTAAAGTTATG GGTCGTCATAAACCTGAAAATATTGTTATTGAAATGGCTCGTGAAAATCAAACTACTCAAAAAGGTCAAAAAAATTCTCGTGAACGTATG AAACGTATTGAAGAAGGTATTAAAGAATTAGGTTCTCAAATTTTAAAAGAACATCCTGTTGAAAATACTCAATTACAAAATGAAAAATTA TATTTATATTATTTACAAAATGGTCGTGATATGTATGTTGATCAAGAATTAGATATTAATCGTTTATCTGATTATGATGTTGATCATATT GTTCCTCAATCTTTTTTAAAAGATGATTCTATTGATAATAAAGTTTTAACTCGTTCTGATAAAAATCGTGGTAAATCTGATAATGTTCCT TCTGAAGAAGTTGTTAAAAAAATGAAAAATTATTGGCGTCAATTATTAAATGCTAAATTAATTACTCAACGTAAATTTGATAATTTAACT AAAGCTGAACGTGGTGGTTTATCTGAATTAGATAAAGCTGGTTTTATTAAACGTCAATTAGTTGAAACTCGTCAAATTACTAAACATGTT GCTCAAATTTTAGATTCTCGTATGAATACTAAATATGATGAAAATGATAAATTAATTCGTGAAGTTAAAGTTATTACTTTAAAATCTAAA TTAGTTTCTGATTTTCGTAAAGATTTTCAATTTTATAAAGTTCGTGAAATTAATAATTATCATCATGCTCATGATGCTTATTTAAATGCT GTTGTTGGTACTGCTTTAATTAAAAAATATCCTAAATTAGAATCTGAATTTGTTTATGGTGATTATAAAGTTTATGATGTTCGTAAAATG ATTGCTAAATCTGAACAAGAAATTGGTAAAGCTACTGCTAAATATTTTTTTTATTCTAATATTATGAATTTTTTTAAAACTGAAATTACT TTAGCTAATGGTGAAATTCGTAAACGTCCTTTAATTGAAACTAATGGTGAAACTGGTGAAATTGTTTGGGATAAAGGTCGTGATTTTGCT ACTGTTCGTAAAGTTTTATCTATGCCTCAAGTTAATATTGTTAAAAAAACTGAAGTTCAAACTGGTGGTTTTTCTAAAGAATCTATTTTA CCTAAACGTAATTCTGATAAATTAATTGCTCGTAAAAAAGATTGGGATCCTAAAAAATATGGTGGTTTTGATTCTCCTACTGTTGCTTAT TCTGTTTTAGTTGTTGCTAAAGTTGAAAAAGGTAAATCTAAAAAATTAAAATCTGTTAAAGAATTATTAGGTATTACTATTATGGAACGT TCTTCTTTTGAAAAAAATCCTATTGATTTTTTAGAAGCTAAAGGTTATAAAGAAGTTAAAAAAGATTTAATTATTAAATTACCTAAATAT TCTTTATTTGAATTAGAAAATGGTCGTAAACGTATGTTAGCTTCTGCTGGTGAATTACAAAAAGGTAATGAATTAGCTTTACCTTCTAAA TATGTTAATTTTTTATATTTAGCTTCTCATTATGAAAAATTAAAAGGTTCTCCTGAAGATAATGAACAAAAACAATTATTTGTTGAACAA CATAAACATTATTTAGATGAAATTATTGAACAAATTTCTGAATTTTCTAAACGTGTTATTTTAGCTGATGCTAATTTAGATAAAGTTTTA TCTGCTTATAATAAACATCGTGATAAACCTATTCGTGAACAAGCTGAAAATATTATTCATTTATTTACTTTAACTAATTTAGGTGCTCCT GCTGCTTTTAAATATTTTGATACTACTATTGATCGTAAACGTTATACTTCTACTAAAGAAGTTTTAGATGCTACTTTAATTCATCAATCT ATTACTGGTTTATATGAAACTCGTATTGATTTATCTCAATTAGGTGGTGATGGTGGTGGTTCTCCTAAAAAAAAACGTAAAGTT	
Cas9 ORF usando codones G bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAAAAATACTCCATCGGCCTCGACATCGGCACCAACTCCGTCGGCTGGGCCGTCATCACCGACGAATACAAAGTCCCCTCCAAAAAA TTCAAAGTCCTCGGCAACACCGACAGACACTCCATCAAAAAAAACCTCATCGGCGCCCTCCTCTTCGACTCCGGCGAAACCGCCGAAGCC ACCAGACTCAAAAGAACCGCCAGAAGAAGATACACCAGAAGAAAAAACAGAATCTGCTACCTCCAAGAAATCTTCTCCAACGAAATGGCC AAAGTCGACGACTCCTTCTTCCACAGACTCGAAGAATCCTTCCTCGTCGAAGAAGACAAAAAACACGAAAGACACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTCGACGAAGTCGCCTACCACGAAAAATACCCCACCATCTACCACCTCAGAAAAAAACTCGTCGACTCCACCGACAAAGCCGACCTC AGACTCATCTACCTCGCCCTCGCCCACATGATCAAATTCAGAGGCCACTTCCTCATCGAAGGCGACCTCAACCCCGACAACTCCGACGTC GACAAACTCTTCATCCAACTCGTCCAAACCTACAACCAACTCTTCGAAGAAAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTCGACGCCAAAGCCATC CTCTCCGCCAGACTCTCCAAATCCAGAAGACTCGAAAACCTCATCGCCCAACTCCCCGGCGAAAAAAAAAACGGCCTCTTCGGCAACCTC ATCGCCCTCTCCCTCGGCCTCACCCCCAACTTCAAATCCAACTTCGACCTCGCCGAAGACGCCAAACTCCAACTCTCCAAAGACACCTAC GACGACGACCTCGACAACCTCCTCGCCCAAATCGGCGACCAATACGCCGACCTCTTCCTCGCCGCCAAAAACCTCTCCGACGCCATCCTC CTCTCCGACATCCTCAGAGTCAACACCGAAATCACCAAAGCCCCCCTCTCCGCCTCCATGATCAAAAGATACGACGAACACCACCAAGAC CTCACCCTCCTCAAAGCCCTCGTCAGACAACAACTCCCCGAAAAATACAAAGAAATCTTCTTCGACCAATCCAAAAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCTCCCAAGAAGAATTCTACAAATTCATCAAACCCATCCTCGAAAAAATGGACGGCACCGAAGAACTCCTCGTC	144

AAACTCAACAGAGAAGACCTCCTCAGAAAACAAAGAACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAAATCCACCTCGGCGAACTCCACGCC
ATCCTCAGAAGACAAGAAGACTTCTACCCCTTCCTCAAAGACAACAGAGAAAAAATCGAAAAAATCCTCACCTTCAGAATCCCCTACTAC
GTCGGCCCCCTCGCCAGAGGCAACTCCAGATTCGCCTGGATGACCAGAAAATCCGAAGAAACCATCACCCCCTGGAACTTCGAAGAAGTC
GTCGACAAAGGCGCCTCCGCCCAATCCTTCATCGAAAGAATGACCAACTTCGACAAAAACCTCCCCAACGAAAAAGTCCTCCCCAAACAC
TCCCTCCTCTACGAATACTTCACCGTCTACAACGAACTCACCAAAGTCAAATACGTCACCGAAGGCATGAGAAAACCCGCCTTCCTCTCC
GGCGAACAAAAAAAAGCCATCGTCGACCTCCTCTTCAAAACCAACAGAAAAGTCACCGTCAAACAACTCAAAGAAGACTACTTCAAAAAA
ATCGAATGCTTCGACTCCGTCGAAATCTCCGGCGTCGAAGACAGATTCAACGCCTCCCTCGGCACCTACCACGACCTCCTCAAAATCATC
AAAGACAAAGACTTCCTCGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTCGAAGACATCGTCCTCACCCTCACCCTCTTCGAAGACAGAGAAATG
ATCGAAGAAAGACTCAAAACCTACGCCCACCTCTTCGACGACAAAGTCATGAAACAACTCAAAAGAAGAAGATACACCGGCTGGGGCAGA
CTCTCCAGAAAACTCATCAACGGCATCAGAGACAAACAATCCGGCAAAACCATCCTCGACTTCCTCAAATCCGACGGCTTCGCCAACAGA
AACTTCATGCAACTCATCCACGACGACTCCCTCACCTTCAAAGAAGACATCCAAAAAGCCCAAGTCTCCGGCCAAGGCGACTCCCTCCAC
GAACACATCGCCAACCTCGCCGGCTCCCCCGCCATCAAAAAAGGCATCCTCCAAACCGTCAAAGTCGTCGACGAACTCGTCAAAGTCATG
GGCAGACACAAACCCGAAAACATCGTCATCGAAATGGCCAGAGAAAACCAAACCACCCAAAAAGGCCAAAAAAACTCCAGAGAAAGAATG
AAAAGAATCGAAGAAGGCATCAAAGAACTCGGCTCCCAAATCCTCAAAGAACACCCCGTCGAAAACACCCAACTCCAAAACGAAAAACTC
TACCTCTACTACCTCCAAAACGGCAGAGACATGTACGTCGACCAAGAACTCGACATCAACAGACTCTCCGACTACGACGTCGACCACATC
GTCCCCCAATCCTTCCTCAAAGACGACTCCATCGACAACAAAGTCCTCACCAGATCCGACAAAAACAGAGGCAAATCCGACAACGTCCCC
TCCGAAGAAGTCGTCAAAAAAATGAAAAACTACTGGAGACAACTCCTCAACGCCAAACTCATCACCCAAAGAAAATTCGACAACCTCACC
AAAGCCGAAAGAGGCGGCCTCTCCGAACTCGACAAAGCCGGCTTCATCAAAAGACAACTCGTCGAAACCAGACAAATCACCAAACACGTC
GCCCAAATCCTCGACTCCAGAATGAACACCAAATACGACGAAAACGACAAACTCATCAGAGAAGTCAAAGTCATCACCCTCAAATCCAAA
CTCGTCTCCGACTTCAGAAAAGACTTCCAATTCTACAAAGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTCAACGCC
GTCGTCGGCACCGCCCTCATCAAAAAATACCCCAAACTCGAATCCGAATTCGTCTACGGCGACTACAAAGTCTACGACGTCAGAAAAATG
ATCGCCAAATCCGAACAAGAAATCGGCAAAGCCACCGCCAAATACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAAACCGAAATCACC
CTCGCCAACGGCGAAATCAGAAAAAGACCCCTCATCGAAACCAACGGCGAAACCGGCGAAATCGTCTGGGACAAAGGCAGAGACTTCGCC
ACCGTCAGAAAAGTCCTCTCCATGCCCCAAGTCAACATCGTCAAAAAAACCGAAGTCCAAACCGGCGGCTTCTCCAAAGAATCCATCCTC
CCCAAAAGAAACTCCGACAAACTCATCGCCAGAAAAAAAGACTGGGACCCCAAAAAATACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTCGCCTAC
TCCGTCCTCGTCGTCGCCAAAGTCGAAAAAGGCAAATCCAAAAAACTCAAATCCGTCAAAGAACTCCTCGGCATCACCATCATGGAAAGA
TCCTCCTTCGAAAAAAACCCCATCGACTTCCTCGAAGCCAAAGGCTACAAAGAAGTCAAAAAAGACCTCATCATCAAACTCCCCAAATAC
TCCCTCTTCGAACTCGAAAACGGCAGAAAAAGAATGCTCGCCTCCGCCGGCGAACTCCAAAAAGGCAACGAACTCGCCCTCCCCTCCAAA
TACGTCAACTTCCTCTACCTCGCCTCCCACTACGAAAAACTCAAAGGCTCCCCCGAAGACAACGAACAAAAACAACTCTTCGTCGAACAA
CACAAACACTACCTCGACGAAATCATCGAACAAATCTCCGAATTCTCCAAAAGAGTCATCCTCGCCGACGCCAACCTCGACAAAGTCCTC
TCCGCCTACAACAAACACAGAGACAAACCCATCAGAGAACAAGCCGAAAACATCATCCACCTCTTCACCCTCACCAACCTCGGCGCCCCC
GCCGCCTTCAAATACTTCGACACCACCATCGACAGAAAAAGATACACCTCCACCAAAGAAGTCCTCGACGCCACCCTCATCCACCAATCC
ATCACCGGCCTCTACGAAACCAGAATCGACCTCTCCCAACTCGGCGGCGACGGCGGCGGCTCCCCCAAAAAAAAAAGAAAAGTC

Cas9 ORF usando codones C bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	**GATAAGAAGTATAGTATTGGATTGGATATTGGAACAAATAGTGTGGGATGGGCTGTGATTACAGATGAGTATAAGGTGCCTAGTAAGAAG** **TTTAAGGTGTTGGGAAATACAGATAGACATAGTATTAAGAAGAATTTGATTGGAGCTTTGTTGTTTGATAGTGGAGAGACAGCTGAGGCT** **ACAAGATTGAAGAGAACAGCTAGAAGAAGATATACAAGAAGAAAGAATAGAATTTGTTATTTGCAGGAGATTTTTAGTAATGAGATGGCT** **AAGGTGGATGATAGTTTTTTTCATAGATTGGAGGAGAGTTTTTTGGTGGAGGAGGATAAGAAGCATGAGAGACATCCTATTTTTGGAAAT** **ATTGTGGATGAGGTGGCTTATCATGAGAAGTATCCTACAATTTATCATTTGAGAAAGAAGTTGGTGGATAGTACAGATAAGGCTGATTTG** **AGATTGATTTATTTGGCTTTGGCTCATATGATTAAGTTTAGAGGACATTTTTTGATTGAGGGAGATTTGAATCCTGATAATAGTGATGTG** **GATAAGTTGTTTATTCAGTTGGTGCAGACATATAATCAGTTGTTTGAGGAGAATCCTATTAATGCTAGTGGAGTGGATGCTAAGGCTATT** **TTGAGTGCTAGATTGAGTAAGAGTAGAAGATTGGAGAATTTGATTGCTCAGTTGCCTGGAGAGAAGAAGAATGGATTGTTTGGAAATTTG** **ATTGCTTTGAGTTTGGGATTGACACCTAATTTTAAGAGTAATTTTGATTTGGCTGAGGATGCTAAGTTGCAGTTGAGTAAGGATACATAT** **GATGATGATTTGGATAATTTGTTGGCTCAGATTGGAGATCAGTATGCTGATTTGTTTTTGGCTGCTAAGAATTTGAGTGATGCTATTTTG** **TTGAGTGATATTTTGAGAGTGAATACAGAGATTACAAAGGCTCCTTTGAGTGCTAGTATGATTAAGAGATATGATGAGCATCATCAGGAT** **TTGACATTGTTGAAGGCTTTGGTGAGACAGCAGTTGCCTGAGAAGTATAAGGAGATTTTTTTTGATCAGAGTAAGAATGGATATGCTGGA** **TATATTGATGGAGGAGCTAGTCAGGAGGAGTTTTATAAGTTTATTAAGCCTATTTTGGAGAAGATGGATGGAACAGAGGAGTTGTTGGTG** **AAGTTGAATAGAGAGGATTTGTTGAGAAAGCAGAGAACATTTGATAATGGAAGTATTCCTCATCAGATTCATTTGGGAGAGTTGCATGCT** **ATTTTGAGAAGACAGGAGGATTTTTATCCTTTTTTGAAGGATAATAGAGAGAAGATTGAGAAGATTTTGACATTTAGAATTCCTTATTAT** **GTGGGACCTTTGGCTAGAGGAAATAGTAGATTTGCTTGGATGACAAGAAAGAGTGAGGAGACAATTACACCTTGGAATTTTGAGGAGGTG** **GTGGATAAGGGAGCTAGTGCTCAGAGTTTTATTGAGAGAATGACAAATTTTGATAAGAATTTGCCTAATGAGAAGGTGTTGCCTAAGCAT** **AGTTTGTTGTATGAGTATTTTACAGTGTATAATGAGTTGACAAAGGTGAAGTATGTGACAGAGGGAATGAGAAAGCCTGCTTTTTTGAGT** **GGAGAGCAGAAGAAGGCTATTGTGGATTTGTTGTTTAAGACAAATAGAAAGGTGACAGTGAAGCAGTTGAAGGAGGATTATTTTAAGAAG** **ATTGAGTGTTTTGATAGTGTGGAGATTAGTGGAGTGGAGGATAGATTTAATGCTAGTTTGGGAACATATCATGATTTGTTGAAGATTATT** **AAGGATAAGGATTTTTTGGATAATGAGGAGAATGAGGATATTTTGGAGGATATTGTGTTGACATTGACATTGTTTGAGGATAGAGAGATG** **ATTGAGGAGAGATTGAAGACATATGCTCATTTGTTTGATGATAAGGTGATGAAGCAGTTGAAGAGAAGAAGATATACAGGATGGGGAAGA** **TTGAGTAGAAAGTTGATTAATGGAATTAGAGATAAGCAGAGTGGAAAGACAATTTTGGATTTTTTGAAGAGTGATGGATTTGCTAATAGA** **AATTTTATGCAGTTGATTCATGATGATAGTTTGACATTTAAGGAGGATATTCAGAAGGCTCAGGTGAGTGGACAGGGAGATAGTTTGCAT** **GAGCATATTGCTAATTTGGCTGGAAGTCCTGCTATTAAGAAGGGAATTTTGCAGACAGTGAAGGTGGTGGATGAGTTGGTGAAGGTGATG** **GGAAGACATAAGCCTGAGAATATTGTGATTGAGATGGCTAGAGAGAATCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAATAGTAGAGAGAGAATG** **AAGAGAATTGAGGAGGGAATTAAGGAGTTGGGAAGTCAGATTTTGAAGGAGCATCCTGTGGAGAATACACAGTTGCAGAATGAGAAGTTG** **TATTTGTATTATTTGCAGAATGGAAGAGATATGTATGTGGATCAGGAGTTGGATATTAATAGATTGAGTGATTATGATGTGGATCATATT** **GTGCCTCAGAGTTTTTTGAAGGATGATAGTATTGATAATAAGGTGTTGACAAGAAGTGATAAGAATAGAGGAAAGAGTGATAATGTGCCT** **AGTGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAATTATTGGAGACAGTTGTTGAATGCTAAGTTGATTACACAGAGAAAGTTTGATAATTTGACA** **AAGGCTGAGAGAGGAGGATTGAGTGAGTTGGATAAGGCTGGATTTATTAAGAGACAGTTGGTGGAGACAAGACAGATTACAAAGCATGTG** **GCTCAGATTTTGGATAGTAGAATGAATACAAAGTATGATGAGAATGATAAGTTGATTAGAGAGGTGAAGGTGATTACATTGAAGAGTAAG** **TTGGTGAGTGATTTTAGAAAGGATTTTCAGTTTTATAAGGTGAGAGAGATTAATAATTATCATCATGCTCATGATGCTTATTTGAATGCT** **GTGGTGGGAACAGCTTTGATTAAGAAGTATCCTAAGTTGGAGAGTGAGTTTGTGTATGGAGATTATAAGGTGTATGATGTGAGAAAGATG** **ATTGCTAAGAGTGAGCAGGAGATTGGAAAGGCTACAGCTAAGTATTTTTTTTATAGTAATATTATGAATTTTTTTAAGACAGAGATTACA**	**145**

	TTGGCTAATGGAGAGATTAGAAAGAGACCTTTGATTGAGACAAATGGAGAGACAGGAGAGATTGTGTGGGATAAGGGAAGAGATTTTGCT ACAGTGAGAAAGGTGTTGAGTATGCCTCAGGTGAATATTGTGAAGAAGACAGAGGTGCAGACAGGAGGATTTAGTAAGGAGAGTATTTTG CCTAAGAGAAATAGTGATAAGTTGATTGCTAGAAAGAAGGATTGGGATCCTAAGAAGTATGGAGGATTTGATAGTCCTACAGTGGCTTAT AGTGTGTTGGTGGTGGCTAAGGTGGAGAAGGGAAAGAGTAAGAAGTTGAAGAGTGTGAAGGAGTTGTTGGGAATTACAATTATGGAGAGA AGTAGTTTTGAGAAGAATCCTATTGATTTTTTGGAGGCTAAGGGATATAAGGAGGTGAAGAAGGATTTGATTATTAAGTTGCCTAAGTAT AGTTTGTTTGAGTTGGAGAATGGAAGAAAGAGAATGTTGGCTAGTGCTGGAGAGTTGCAGAAGGGAAATGAGTTGGCTTTGCCTAGTAAG TATGTGAATTTTTTGTATTTGGCTAGTCATTATGAGAAGTTGAAGGGAAGTCCTGAGGATAATGAGCAGAAGCAGTTGTTTGTGGAGCAG CATAAGCATTATTTGGATGAGATTATTGAGCAGATTAGTGAGTTTAGTAAGAGAGTGATTTTGGCTGATGCTAATTTGGATAAGGTGTTG AGTGCTTATAATAAGCATAGAGATAAGCCTATTAGAGAGCAGGCTGAGAATATTATTCATTTGTTTACATTGACAAATTTGGGAGCTCCT GCTGCTTTTAAGTATTTTGATACAACAATTGATAGAAAGAGATATACAAGTACAAAGGAGGTGTTGGATGCTACATTGATTCATCAGAGT ATTACAGGATTGTATGAGACAAGAATTGATTTGAGTCAGTTGGGAGGAGATGGAGGAGGAAGTCCTAAGAAGAAGAGAAAGGTG	
Cas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATCCTG CTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC TCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCAC	146

	GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCC TCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAG CTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTG CCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTAC TCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG TCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC TCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGTCC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTG	
Cas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTG CTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG	147

	AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCC AGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAG CTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTG CCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTAC AGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG AGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC AGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG AGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTG	

Cas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATCCTG CTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC TCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCC TCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAG CTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC	**148**

	CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTG CCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTAC TCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG TCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC TCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGTCC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCTCCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACGGC TCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACTCCGGC	
Cas9 nickasa ORF usando codones A bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATCCTG CTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC TCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAACCGG	149

	AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCC TCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAG CTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTG CCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTAC TCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG TCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC TCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGTCC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTG	
Cas9 nickasa ORF usando codones A bajos de la Tabla 4 (no NLS y sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATCCTG CTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGC	150

	TACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC TCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCC TCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAG CTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTG CCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTAC TCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG TCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC TCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGTCC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGAC	

Cas9 nickasa ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATCCTG CTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC TCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCC TCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAG CTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC	151

	CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTG CCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTAC TCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG TCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC TCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGTCC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCTCCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACGGC TCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACTCCGGC	
dCas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATCCTG CTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC TCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAACCGG	152

	AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACGCCATC GTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCC TCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAG CTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTG CCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTAC TCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG TCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC TCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGTCC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTG	
dCas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4 (no NLS y sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATCCTG CTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGC	153

	TACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC TCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACGCCATC GTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCC TCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAG CTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTG CCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTAC TCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG TCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC TCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGTCC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGAC	

dCas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCTCCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATCCTG CTGTCCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC TCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACGCCATC GTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCC TCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAG CTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC	154

	CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTG CCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTAC TCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG TCCTCCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC TCCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG TCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGTCC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCTCCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACGGC TCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACTCCGGC	
Cas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTG CTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGG	155

	AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCC AGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAG CTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTG CCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTAC AGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG AGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC AGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG AGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCAGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACGGC AGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACAGCGGC	
Cas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (no NLS y sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTG CTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC	156

	CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCC AGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAG CTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTG CCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTAC AGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG AGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC AGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG AGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGAC	

Cas9 nickasa ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTG CTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCC AGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAG CTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC	157

	CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTG CCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTAC AGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG AGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC AGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG AGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTG	
Cas9 nickasa ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTG CTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCAC	158

	GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCC AGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAG CTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTG CCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTAC AGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG AGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC AGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG AGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCAGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACGGC AGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACAGCGGC	
Cas9 nickasa ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (no NLS y sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGcCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTG CTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGC	159

	TACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACATC GTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCC AGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAG CTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTG CCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTAC AGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG AGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC AGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG AGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGAC	

dCas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGcCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTG CTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACgcCATC GTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCC AGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAG CTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC	160

	CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTG CCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTAC AGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG AGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC AGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG AGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTG	
dCas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4, con dos secuencias C-terminales NLS (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTG CTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGC TACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCAC	161

	GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACGCCATC GTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCC AGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAG CTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTG CCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTAC AGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG AGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC AGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG AGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCAGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACGGC AGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGACAGCGGC	
dCas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (no NLS y sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGcCATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCCAGCAAGAAG TTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCC ACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCC AAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAAC ATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTG GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTCGAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATC CTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTG ATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTG CTGAGCGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGAC CTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGC	162

	TACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTG AAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCC ATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTAC GTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGGAACTTCGAGGAGGTG GTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGAAGGTGCTGCCCAAGCAC AGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGC GGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAG ATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATG ATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGG CTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGG AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCAC GAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATG GGCCGGCACAAGCCCGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATG AAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACgcCATC GTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCC AGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACC AAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTG GCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAG CTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACTACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCC GTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATG ATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACC CTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCC ACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTG CCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTAC AGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGG AGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTAC AGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAG TACGTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAGCAG CACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGACAAGGTGCTG AGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCC GCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGC ATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGAC	

Nme Cas9 ORF usando codones A bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GCCGCCTTCAAGCCCAACTCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAG GAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCC CGGCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGACCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTG CTGCAGGCCGCCAACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAG CTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCC GACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCGGCAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCC CTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGTCCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAG CTGATCCTGCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACC CAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACC TACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACCGACACCGAG CGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCCTTC TTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGAG AAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCCCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACC GACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTG CAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGAC CACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTG TCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAG TCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTC CCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAG GAGATCAACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAAC AACAAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACTCCCGGGAG TGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGC TTCAAGGAGCGGAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGGATGCGGCTGACCGGCAAGGGC AAGAAGCGGGTGTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGACCGG CACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAAC GCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAG GAGGTGATGATCCGGGTGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCTGGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCC GAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCCAG GGCCACATGGAGACCGTGAAGTCCGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGTCCGTGCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAGCTGAAGGAC CTGGAGAAGATGGTGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGACCCCGCCAAG GCCTTCGCCGAGCCCTTCTACAAGTACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGCAGAAGACC GGCGTGTGGGTGCGGAACCACAACGGCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCGGGTGGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTACTACCTG GTGCCCATCTACTCCTGGCAGGTGGCCAAGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGTGCAGGGCAAGGACGAGGAGGACTGGCAGCTGATC GACGACTCCTTCAACTTCAAGTTCTCCCTGCACCCCAACGACCTGGTGGAGGTGATCACCAAGAAGGCCCGGATGTTCGGCTACTTCGCC TCCTGCCACCGGGGCACCGGCAACATCAACATCCGGATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGCAAGAACGGCATCCTGGAGGGCATCGGC	163

	GTGAAGACCGCCCTGTCCTTCCAGAAGTACCAGATCGACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTG CGGTCCGGCAAGCGGACCGCCGACGGCTCCGAGTTCGAGTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAG	
Nme Cas9 ORF usando codones A/U bajos de la Tabla 4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GCCGCCTTCAAGCCCAACAGCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCAGCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAG GAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACAGCCTGGCCATGGCC CGGCGGCTGGCCCGGAGCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGACCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTG CTGCAGGCCGCCAACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGAGCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAG CTGACCCCCCTGGAGTGGAGCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGAGCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCC GACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCGGCAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCC CTGAACAAGTTCGAGAAGGAGAGCGGCCACATCCGGAACCAGCGGAGCGACTACAGCCACACCTTCAGCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAG CTGATCCTGCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGAGCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACC CAGCGGCCCGCCCTGAGCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACC TACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCAGCGAGCGGCCCCTGACCGACACCGAG CGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGAGCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCCTTC TTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCAGCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCAGCCGGGCCCTGGAG AAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGAGCCCCCTGAACCTGAGCCCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCAGCCTGTTCAAGACC GACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGATCCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCAGCTTCGACAAGTTCGTG CAGATCAGCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGAC CACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTG AGCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCAGCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAG AGCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTC CCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGAGCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACAGCGGCAAG GAGATCAACCTGGGCCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCAGCCGGACCTGGGACGACAGCTTCAAC AACAAGGTGCTGGTGCTGGGCAGCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACAGCCGGGAG TGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCAGCCGGTTCCCCCGGAGCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGC TTCAAGGAGCGGAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCGGATGCGGCTGACCGGCAAGGGC AAGAAGCGGGTGTTCGCCAGCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGACCGG CACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCAGCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAAC GCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCGAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAG GAGGTGATGATCCGGGTGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCTGGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCC GAGAAGCTGAGCAGCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTGAGCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGAGCGGCCAG GGCCACATGGAGACCGTGAAGAGCGCCAAGCGGCTGGACGAGGGCGTGAGCGTGCTGCGGGTGCCCCTGACCCAGCTGAAGCTGAAGGAC CTGGAGAAGATGGTGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCCACAAGGACGACCCCGCCAAG GCCTTCGCCGAGCCCTTCTACAAGTACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGCAGGTGCAGAAGACC GGCGTGTGGGTGCGGAACCACAACGGCATCGCCGACAACGCCACCATGGTGCGGGTGGACGTGTTCGAGAAGGGCGACAAGTACTACCTG	164

	GTGCCCATCTACAGCTGGCAGGTGGCCAAGGGCATCCTGCCCGACCGGGCCGTGGTGCAGGGCAAGGACGAGGAGGACTGGCAGCTGATC GACGACAGCTTCAACTTCAAGTTCAGCCTGCACCCCAACGACCTGGTGGAGGTGATCACCAAGAAGGCCCGGATGTTCGGCTACTTCGCC AGCTGCCACCGGGGCACCGGCAACATCAACATCCGGATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGCAAGAACGGCATCCTGGAGGGCATCGGC GTGAAGACCGCCCTGAGCTTCCAGAAGTACCAGATCGACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTG CGGAGCGGCAAGCGGACCGCCGACGGCAGCGAGTTCGAGAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAG	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS1 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAAC ATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTG AGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTC GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATC CTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTG CTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGAC CTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTC AAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCA ATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTAC GTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTC GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGC GGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG ATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATG ATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGA CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGA AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCAC GAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATC GTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCG AGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACA	165

	AAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTC GCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCA GTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG ATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACA CTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCA ACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTG CCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATAC AGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGA AGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAG TACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAG CACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTG AGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCTGGCAGCAAAGAGAAGCAGAACAACA	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS2 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAAC ATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTG AGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTC GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATC CTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTG CTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGAC CTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTC AAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCA ATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTAC GTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTC GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGC GGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG	166

	ATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATG ATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGA CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGA AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCAC GAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATC GTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCG AGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACA AAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTC GCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCA GTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG ATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACA CTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCA ACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTG CCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATAC AGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGA AGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAG TACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAG CACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTG AGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCAGGCAGCAAAGAGAAGCAGAACAACA	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS3 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAAC ATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTG AGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTC GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATC CTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG	167

	ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTG CTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGAC CTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTC AAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCA ATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTAC GTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTC GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGC GGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG ATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATG ATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGA CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGA AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCAC GAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATC GTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCG AGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACA AAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTC GCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCA GTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG ATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACA CTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCA ACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTG CCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATAC AGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGA AGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAG TACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAG CACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTG	

	AGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGGCACCGGCAAAGAGAGAAAGAACA ACA	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS4 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAAC ATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTG AGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTC GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATC CTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTG CTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGAC CTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTC AAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCA ATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTAC GTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTC GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGC GGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG ATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATG ATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGA CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGA AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCAC GAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATC GTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCG AGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACA AAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTC	168

	GCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCA GTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG ATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACA CTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCA ACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTG CCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATAC AGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGA AGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAG TACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAG CACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTG AGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCAGGCAGCAAAGAGACCGAGAACAACA	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS5 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAAC ATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTG AGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTC GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATC CTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTG CTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGAC CTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTC AAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCA ATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTAC GTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTC GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGC GGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG ATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATC	169

	AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATG ATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGA CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGA AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCAC GAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATC GTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCG AGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACA AAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTC GCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCA GTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG ATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACA CTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCA ACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTG CCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATAC AGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGA AGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAG TACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAG CACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTG AGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCAGAGCAGCAAAGAGACCGAGAACAACA	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS6 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAAC ATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTG AGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTC GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATC CTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATAC	170

GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTG
CTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGAC
CTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA
TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTC
AAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCA
ATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTAC
GTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTC
GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC
AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGC
GGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG
ATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATC
AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATG
ATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGA
CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGA
AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCAC
GAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG
GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG
AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTG
TACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATC
GTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCG
AGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACA
AAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTC
GCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG
CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCA
GTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG
ATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACA
CTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCA
ACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTG
CCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATAC
AGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGA
AGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC
AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAG
TACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAG
CACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTG
AGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCG

	GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCGCAGCAGCAAAGAGAAGCTGGAGCATG GCAGCA	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS7 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAAC ATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTG AGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTC GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATC CTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTG CTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGAC CTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTC AAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCA ATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTAC GTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTC GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGC GGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG ATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATG ATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGA CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGA AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCAC GAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATC GTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCG AGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACA AAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTC GCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG	171

	CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCA GTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG ATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACA CTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCA ACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTG CCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATAC AGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGA AGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAG TACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAG CACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTG AGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCGCAGCAGCAAAGAGAGTCTGGAGCATG GCATTC	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS8 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAAC ATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTG AGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTC GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATC CTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTG CTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGAC CTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTC AAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCA ATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTAC GTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTC GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGC GGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG ATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATC	172

	AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATG ATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGA CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGA AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCAC GAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATC GTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCG AGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACA AAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTC GCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCA GTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG ATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACA CTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCA ACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTG CCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATAC AGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGA AGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAG TACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAG CACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTG AGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCGCAGCAGCAAAGAGAAGCTGGAGCATG GCATTC	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS9 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAAC ATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTG AGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTC GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATC CTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG	173

	ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTG CTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGAC CTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTC AAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCA ATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTAC GTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTC GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGC GGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG ATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATG ATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGA CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGA AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCAC GAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATC GTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCG AGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACA AAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTC GCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCA GTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG ATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACA CTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCA ACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTG CCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATAC AGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGA AGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAG TACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAG CACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTG	

	AGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCGCAGCAGCAAAGAGAAAGTACTTCGCA GCA	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS10 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAAC ATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTG AGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTC GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATC CTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTG CTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGAC CTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTC AAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCA ATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTAC GTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTC GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGC GGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG ATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATG ATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGA CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGA AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCAC GAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATC GTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCG AGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACA AAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTC	174

	GCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCA GTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG ATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACA CTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCA ACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTG CCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATAC AGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGA AGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAG TACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAG CACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTG AGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCAGAGCAGCAAAGAGAAAGGCATTCGCA GCA	
Marco de lectura abierto para Cas9 con NLS11 (sin codones de inicio o de parada; apropiada para inclusión en la secuencia codificadora de proteína de fusión)	GACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAG TTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCA ACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCA AAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAAC ATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTG AGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTC GACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATC CTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTG ATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATAC GACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTG CTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGAC CTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGA TACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTC AAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCA ATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTAC GTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTC GTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCAC AGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGC GGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAG	175

	ATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATC AAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATG ATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGA CTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGA AACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCAC GAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATG GGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATG AAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTG TACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATC GTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCG AGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACA AAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTC GCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAG CTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCA GTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATG ATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACA CTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCA ACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTG CCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATAC AGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGA AGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTAC AGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAG TACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAG CACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTG AGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCG GCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGC ATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCAGAGCAGCAAAGAGAAAGTACTTCGCA GTC	
transcripto de ARNm con XBG UTRs y Cas9 ORF con codones U 1 bajos de la Tabla 4	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGCCUGGACAUCGGCACCAACAGCG UGGGCUGGGCCGUGAUCACCGACGAGUACAAGGUGCCCAGCAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGCAACACCGACAGACACAGCAUCAAGAAGA ACCUGAUCGGCGCCCUGCUGUUCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCAGACUGAAGAGAACCGCCAGAAGAAGAUACACCAGAAGAA AGAACAGAAUCUGCUACCUGCAGGAGAUCUUCAGCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAGGAGAGCUUCC UGGUGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGAGACACCCCAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUGGCCUACCACGAGAAGUACCCCACCAUCU ACCACCUGAGAAAGAAGCUGGUGGACAGCACCGACAAGGCCGACCUGAGACUGAUCUACCUGGCCCUGGCCCACAUGAUCAAGUUCAGAG GCCACUUCCUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCCGACAACAGCGACGUGGACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGCUGU	176

	UCGAGGAGAACCCCAUCAACGCCAGCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUCCUGAGCGCCAGACUGAGCAAGAGCAGAAGACUGGAGAACCUGA UCGCCCAGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAACCUGAUCGCCCUGAGCCUGGGCCUGACCCCCAACUUCAAGAGCAACU UCGACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACCUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCCAGAUCGGCGACCAGU ACGCCGACCUGUUCCUGGCCGCCAAGAACCUGAGCGACGCCAUCCUGCUGAGCGACAUCCUGAGAGUGAACACCGAGAUCACCAAGGCCC CCCUGAGCGCCAGCAUGAUCAAGAGAUACGACGAGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAGGCCCUGGUGAGACAGCAGCUGCCCGAGA AGUACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGCUACGCCGGCUACAUCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCA UCAAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUGAAGCUGAACAGAGAGGACCUGCUGAGAAAGCAGAGAACCUUCG ACAACGGCAGCAUCCCCCACCAGAUCCACCUGGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGAGAAGACAGGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACA ACAGAGAGAAGAUCGAGAAGAUCCUGACCUUCAGAAUCCCCUACUACGUGGGCCCCCUGGCCAGAGGCAACAGCAGAUUCGCCUGGAUGA CCAGAAAGAGCGAGGAGACCAUCACCCCCUGGAACUUCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCUUCAUCGAGAGAAUGA CCAACUUCGACAAGAACCUGCCCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAGCACAGCCUGCUGUACGAGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGACCA AGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGAGAAAGCCCGCCUUCCUGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACCA ACAGAAAGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACAGCGUGGAGAUCAGCGGCGUGGAGGACA GAUUCAACGCCAGCCUGGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGAGAACGAGGACAUCC UGGAGGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUGUUCGAGGACAGAGAGAUGAUCGAGGAGAGACUGAAGACCUACGCCCACCUGUUCGACGACA AGGUGAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGAAGAUACACCGGCUGGGGCAGACUGAGCAGAAAGCUGAUCAACGGCAUCAGAGACAAGCAGAGCG GCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGCUUCGCCAACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACAGCCUGACCUUCAAGG AGGACAUCCAGAAGGCCCAGGUGAGCGGCCAGGGCGACAGCCUGCACGAGCACAUCGCCAACCUGGCCGGCAGCCCCGCCAUCAAGAAGG GCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCAGACACAAGCCCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCAGAG AGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCAGAGAGAGAAUGAAGAGAAUCGAGGAGGGCAUCAAGGAGCUGGGCAGCCAGAUCC UGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAGAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCAGAGACAUGUACGUGGACC AGGAGCUGGACAUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUGGACCACAUCGUGCCCCAGAGCUUCCUGAAGGACGACAGCAUCGACAACAAGG UGCUGACCAGAAGCGACAAGAACAGAGGCAAGAGCGACAACGUGCCCAGCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGAGACAGC UGCUGAACGCCAAGCUGAUCACCCAGAGAAAGUUCGACAACCUGACCAAGGCCGAGAGAGGCGGCCUGAGCGAGCUGGACAAGGCCGGCU UCAUCAAGAGACAGCUGGUGGAGACCAGACAGAUCACCAAGCACGUGGCCCAGAUCCUGGACAGCAGAAUGAACACCAAGUACGACGAGA ACGACAAGCUGAUCAGAGAGGUGAAGGUGAUCACCCUGAAGAGCAAGCUGGUGAGCGACUUCAGAAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUGA GAGAGAUCAACAACUACCACCACGCCCACGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGA GCGAGUUCGUGUACGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGAGAAAGAUGAUCGCCAAGAGCGAGCAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCCAAGU ACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUGGCCAACGGCGAGAUCAGAAAGAGACCCCUGAUCGAGACCA ACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGGGACAAGGGCAGAGACUUCGCCACCGUGAGAAAGGUGCUGAGCAUGCCCCAGGUGAACAUCGUGA AGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGCUUCAGCAAGGAGAGCAUCCUGCCCAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCCAGAAAGAAGGACU GGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUCGACAGCCCCACCGUGGCCUACAGCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGCAAGAGCAAGA AGCUGAAGAGCGUGAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGAGAGAAGCAGCUUCGAGAAGAACCCCAUCGACUUCCUGGAGGCCAAGG GCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCAAGUACAGCCUGUUCGAGCUGGAGAACGGCAGAAAGAGAAUGCUGGCCA GCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCUGCCCAGCAAGUACGUGAACUUCCUGUACCUGGCCAGCCACUACGAGAAGCUGA	

	AGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGAGCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCAGCGAGU UCAGCAAGAGAGUGAUCCUGGCCGACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGAGCGCCUACAACAAGCACAGAGACAAGCCCAUCAGAGAGCAGG CCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCACCCUGACCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACACCACCAUCGACAGAAAGAGAU ACACCAGCACCAAGGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCCACCAGAGCAUCACCGGCCUGUACGAGACCAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGG GCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGAGAAAGGUGUGACUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAU AAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUC UCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAUCUAG	
transcripto de ARNm con XBG UTRs y Cas9 ORF con codones A bajos de la Tabla 4	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACAAGAAGUACUCCAUCGGCCUGGACAUCGGCACCAACUCCG UGGGCUGGGCCGUGAUCACCGACGAGUACAAGGUGCCCUCCAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGCACUCCAUCAAGAAGA ACCUGAUCGGCGCCCUGCUGUUCGACUCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGUACACCCGGCGGA AGAACCGGAUCUGCUACCUGCAGGAGAUCUUCUCCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACUCCUUCUUCCACCGGCUGGAGGAGUCCUUCC UGGUGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUGGCCUACCACGAGAAGUACCCCACCAUCU ACCACCUGCGGAAGAAGCUGGUGGACUCCACCGACAAGGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUGGCCCUGGCCCACAUGAUCAAGUUCCGGG GCCACUUCCUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCCGACAACUCCGACGUGGACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGCUGU UCGAGGAGAACCCCAUCAACGCCUCCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUCCUGUCCGCCCGGCUGUCCAAGUCCCGGCGGCUGGAGAACCUGA UCGCCCAGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAACCUGAUCGCCCUGUCCCUGGGCCUGACCCCCAACUUCAAGUCCAACU UCGACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUGUCCAAGGACACCUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCCAGAUCGGCGACCAGU ACGCCGACCUGUUCCUGGCCGCCAAGAACCUGUCCGACGCCAUCCUGCUGUCCGACAUCCUGCGGGUGAACACCGAGAUCACCAAGGCCC CCCUGUCCGCCUCCAUGAUCAAGCGGUACGACGAGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAGGCCCUGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGAGA AGUACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGUCCAAGAACGGCUACGCCGGCUACAUCGACGGCGGCGCCUCCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCA UCAAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUGAAGCUGAACCGGGAGGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACCUUCG ACAACGGCUCCAUCCCCCACCAGAUCCACCUGGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACA ACCGGGAGAAGAUCGAGAAGAUCCUGACCUUCCGGAUCCCCUACUACGUGGGCCCCCUGGCCCGGGGCAACUCCCGGUUCGCCUGGAUGA CCCGGAAGUCCGAGGAGACCAUCACCCCCUGGAACUUCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCGCCUCCGCCCAGUCCUUCAUCGAGCGGAUGA CCAACUUCGACAAGAACCUGCCCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAGCACUCCCUGCUGUACGAGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGACCA AGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGCGGAAGCCCGCCUUCCUGUCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACCA ACCGGAAGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACUCCGUGGAGAUCUCCGGCGUGGAGGACC GGUUCAACGCCUCCCUGGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGAGAACGAGGACAUCC UGGAGGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUGUUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGCGGCUGAAGACCUACGCCCACCUGUUCGACGACA AGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCGGUACACCGGCUGGGGCCGGCUGUCCCGGAAGCUGAUCAACGGCAUCCGGGACAAGCAGUCCG GCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGAAGUCCGACGGCUUCGCCAACCGGAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACUCCCUGACCUUCAAGG AGGACAUCCAGAAGGCCCAGGUGUCCGGCCAGGGCGACUCCCUGCACGAGCACAUCGCCAACCUGGCCGGCUCCCCCGCCAUCAAGAAGG GCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCCGGG AGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACUCCCGGGAGCGGAUGAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUCAAGGAGCUGGGCUCCCAGAUCC	177

	UGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAGAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCCGGGACAUGUACGUGGACC AGGAGCUGGACAUCAACCGGCUGUCCGACUACGACGUGGACCACAUCGUGCCCCAGUCCUUCCUGAAGGACGACUCCAUCGACAACAAGG UGCUGACCCGGUCCGACAAGAACCGGGGCAAGUCCGACAACGUGCCCUCCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGCAGC UGCUGAACGCCAAGCUGAUCACCCAGCGGAAGUUCGACAACCUGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGUCCGAGCUGGACAAGGCCGGCU UCAUCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACCCGGCAGAUCACCAAGCACGUGGCCCAGAUCCUGGACUCCCGGAUGAACACCAAGUACGACGAGA ACGACAAGCUGAUCCGGGAGGUGAAGGUGAUCACCCUGAAGUCCAAGCUGGUGUCCGACUUCCGGAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUGC GGGAGAUCAACAACUACCACCACGCCCACGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGU CCGAGUUCGUGUACGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUCGCCAAGUCCGAGCAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCCAAGU ACUUCUUCUACUCCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUGGCCAACGGCGAGAUCCGGAAGCGGCCCCUGAUCGAGACCA ACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGGGACAAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGGAAGGUGCUGUCCAUGCCCCAGGUGAACAUCGUGA AGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGCUUCUCCAAGGAGUCCAUCCUGCCCAAGCGGAACUCCGACAAGCUGAUCGCCCGGAAGAAGGACU GGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUCGACUCCCCCACCGUGGCCUACUCCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGCAAGUCCAAGA AGCUGAAGUCCGUGAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGUCCUCCUUCGAGAAGAACCCCAUCGACUUCCUGGAGGCCAAGG GCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCAAGUACUCCCUGUUCGAGCUGGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGCUGGCCU CCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCUGCCCUCCAAGUACGUGAACUUCCUGUACCUGGCCUCCCACUACGAGAAGCUGA AGGGCUCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGAGCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCUCCGAGU UCUCCAAGCGGGUGAUCCUGGCCGACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGUCCGCCUACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAUCCGGGAGCAGG CCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCACCCUGACCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACACCACCAUCGACCGGAAGCGGU ACACCUCCACCAAGGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCCACCAGUCCAUCACCGGCCUGUACGAGACCCGGAUCGACCUGUCCCAGCUGG GCGGCGACGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUGACUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAU AAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUC UCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAUCUAG	
transcripto de ARNm con XBG UTRs y Cas9 ORF con codones U bajos/A de la Tabla 4	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGCCUGGACAUCGGCACCAACAGCG UGGGCUGGGCCGUGAUCACCGACGAGUACAAGGUGCCCAGCAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGCACAGCAUCAAGAAGA ACCUGAUCGGCGCCCUGCUGUUCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGUACACCCGGCGGA AGAACCGGAUCUGCUACCUGCAGGAGAUCUUCAGCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACAGCUUCUUCCACCGGCUGGAGGAGAGCUUCC UGGUGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUGGCCUACCACGAGAAGUACCCCACCAUCU ACCACCUGCGGAAGAAGCUGGUGGACAGCACCGACAAGGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUGGCCCUGGCCCACAUGAUCAAGUUCCGGG GCCACUUCCUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCCGACAACAGCGACGUGGACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGCUGU UCGAGGAGAACCCCAUCAACGCCAGCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUCCUGAGCGCCCGGCUGAGCAAGAGCCGGCGGCUGGAGAACCUGA UCGCCCAGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAACCUGAUCGCCCUGAGCCUGGGCCUGACCCCCAACUUCAAGAGCAACU UCGACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUGAGCAAGGACACCUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCCAGAUCGGCGACCAGU ACGCCGACCUGUUCCUGGCCGCCAAGAACCUGAGCGACGCCAUCCUGCUGAGCGACAUCCUGCGGGUGAACACCGAGAUCACCAAGGCCC CCCUGAGCGCCAGCAUGAUCAAGCGGUACGACGAGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAGGCCCUGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGAGA	**178**

	AGUACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGCUACGCCGGCUACAUCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCA UCAAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUGAAGCUGAACCGGGAGGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACCUUCG ACAACGGCAGCAUCCCCCACCAGAUCCACCUGGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACA ACCGGGAGAAGAUCGAGAAGAUCCUGACCUUCCGGAUCCCCUACUACGUGGGCCCCCUGGCCCGGGGCAACAGCCGGUUCGCCUGGAUGA CCCGGAAGAGCGAGGAGACCAUCACCCCCUGGAACUUCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCUUCAUCGAGCGGAUGA CCAACUUCGACAAGAACCUGCCCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAGCACAGCCUGCUGUACGAGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGACCA AGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGCGGAAGCCCGCCUUCCUGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACCA ACCGGAAGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACAGCGUGGAGAUCAGCGGCGUGGAGGACC GGUUCAACGCCAGCCUGGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGAGAACGAGGACAUCC UGGAGGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUGUUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGCGGCUGAAGACCUACGCCCACCUGUUCGACGACA AGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCGGUACACCGGCUGGGGCCGGCUGAGCCGGAAGCUGAUCAACGGCAUCCGGGACAAGCAGAGCG GCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGCUUCGCCAACCGGAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACAGCCUGACCUUCAAGG AGGACAUCCAGAAGGCCCAGGUGAGCGGCCAGGGCGACAGCCUGCACGAGCACAUCGCCAACCUGGCCGGCAGCCCCGCCAUCAAGAAGG GCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCCGGG AGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGAUGAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUCAAGGAGCUGGGCAGCCAGAUCC UGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAGAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCCGGGACAUGUACGUGGACC AGGAGCUGGACAUCAACCGGCUGAGCGACUACGACGUGGACCACAUCGUGCCCCAGAGCUUCCUGAAGGACGACAGCAUCGACAACAAGG UGCUGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGUGCCCAGCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGCAGC UGCUGAACGCCAAGCUGAUCACCCAGCGGAAGUUCGACAACCUGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGAGCGAGCUGGACAAGGCCGGCU UCAUCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACCCGGCAGAUCACCAAGCACGUGGCCCAGAUCCUGGACAGCCGGAUGAACACCAAGUACGACGAGA ACGACAAGCUGAUCCGGGAGGUGAAGGUGAUCACCCUGAAGAGCAAGCUGGUGAGCGACUUCCGGAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUGC GGGAGAUCAACAACUACCACCACGCCCACGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGA GCGAGUUCGUGUACGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUCGCCAAGAGCGAGCAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCCAAGU ACUUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUGGCCAACGGCGAGAUCCGGAAGCGGCCCCUGAUCGAGACCA ACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGGGACAAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGGAAGGUGCUGAGCAUGCCCCAGGUGAACAUCGUGA AGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGCUUCAGCAAGGAGAGCAUCCUGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCUGAUCGCCCGGAAGAAGGACU GGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUCGACAGCCCCACCGUGGCCUACAGCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGCAAGAGCAAGA AGCUGAAGAGCGUGAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGAGCAGCUUCGAGAAGAACCCCAUCGACUUCCUGGAGGCCAAGG GCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCAAGUACAGCCUGUUCGAGCUGGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGCUGGCCA GCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCUGCCCAGCAAGUACGUGAACUUCCUGUACCUGGCCAGCCACUACGAGAAGCUGA AGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGAGCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCAGCGAGU UCAGCAAGCGGGUGAUCCUGGCCGACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGAGCGCCUACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAUCCGGGAGCAGG CCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCACCCUGACCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACACCACCAUCGACCGGAAGCGGU ACACCAGCACCAAGGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCCACCAGAGCAUCACCGGCCUGUACGAGACCCGGAUCGACCUGAGCCAGCUGG GCGGCGACGGCGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUGACUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAU	

	AAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUC UCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAUCUAG	
transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con HiBiT tag, HSD 5′ UTR y ALB 3′ UTR humano	GGGTCCCGCAGTCGGCGTCCAGCGGCTCTGCTTGTTCGTGTGTGTGTCGTTGCAGGCCTTATTCGGATCCGCCACCATGGACAAGAAGTA CAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCT GGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAA GAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGA CAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGA AGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTA CCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTT CATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAG ACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAG CCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCT GGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACAT CCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCT GAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGG AGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAG AGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAG ACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCT GGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGG AGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTA CGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAA GAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTT CGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGA CTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAG ACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAA GCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCA GCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGC AAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAA GCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGA AGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTA CCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAG CTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGT CGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAG AGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCT	179

	GGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGA CTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAAC AGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAG CGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGG AGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAA GGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAA CAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGT CGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGA AAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGA ACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTT CCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTA CCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAA CAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAA GTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACT GTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACACC GGAAAGCGTCAGCGGATGGAGACTGTTCAAGAAGATCAGCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAG AAAGAAAATGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTT AATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAATCTAG	
transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con HiBiT tag, CMV-1 5′ UTR y ALB 3′ UTR humano	GGGCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATCGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAAC AAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCAT CAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACAC AAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGA AAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCC GACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAA GTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAA CCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGA AAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAA GAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGG AGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCAC AAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCT GCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTA CAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAG AACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCT GAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGC	180

ATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGA
AAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGA
ACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTT
CAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGT
CGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGA
AGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTT
CGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAA
GCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGAC
ATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAAT
CAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAAT
GGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAG
CCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTA
CGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGA
CAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTG
GAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAA
GGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTA
CGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTA
CAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAA
GCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAAC
AGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGAT
CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAA
CATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAA
GAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAA
GAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGA
AGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAAT
GCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGA
AAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGAT
CAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAG
AGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAG
AAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAG
CCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACACCGGAAAGCGTCAGCGGATGGAGACT
GTTCAAGAAGATCAGCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATAGCTT
ATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGT
GCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con HiBiT tag, CMV-2 5′ UTR y ALB 3′ UTR humano	GGGAGAAGACACCGGGACCGATCCAGCCTCCGCGGCCGGGAACGGCGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAAC AAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCAT CAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACAC AAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGA AAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCC GACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAA GTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAA CCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGA AAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAA GAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGG AGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCAC AAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCT GCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTA CAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAG AACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCT GAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGC ATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGA AAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGA ACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTT CAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGT CGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGA AGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTT CGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAA GCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGAC ATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAAT CAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAAT GGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAG CCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTA CGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGA CAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTG GAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAA GGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTA CGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTA CAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAA GCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAAC	181

	AGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGAT CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAA CATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAA GAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGA AGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAAT GCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGA AAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGAT CAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAG AGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAG AAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAG CCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACACCGGAAAGCGTCAGCGGATGGAGACT GTTCAAGAAGATCAGCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATAGCTT ATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGT GCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	
transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con HiBiT tag, CMV-3 5′ UTR y ALB 3′ UTR humano	GGGTGCATTGGAACGCGGATTCCCCGTGCCAAGAGTGACTCACCGCGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAAC AAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCAT CAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACAC AAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGA AAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCC GACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAA GTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAA CCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGA AAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAA GAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGG AGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCAC AAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCT GCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTA CAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAG AACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCT GAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGC ATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGA AAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGA ACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTT	**182**

	CAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGT CGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGA AGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTT CGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAA GCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGAC ATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAAT CAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAAT GGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAG CCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTA CGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGA CAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTG GAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAA GGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTA CGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTA CAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAA GCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAAC AGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGAT CGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAA CATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAA GAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAA GAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGA AGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAAT GCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGA AAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGAT CAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAG AGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAG AAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAG CCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACACCGGAAAGCGTCAGCGGATGGAGACT GTTCAAGAAGATCAGCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATAGCTT ATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGT GCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	
transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con HiBiT tag, HBA 5′ UTR y ALB 3′ UTR humano	GGGCATAAACCCTGGCGCGCTCGCGGCCCGGCACTCTTCTGGTCCCCACAGACTCAGAGAGAACCCACCCGCCACCATGGACAAGAAGTA CAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCT GGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAA	**183**

	GAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGA CAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGA AGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTA CCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTT CATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAG ACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAG CCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCT GGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACAT CCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCT GAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGG AGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAG AGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAG ACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCT GGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGG AGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTA CGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAA GAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTT CGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGA CTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAG ACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAA GCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCA GCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGC AAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAA GCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGA AGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTA CCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAG CTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGT CGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAG AGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCT GGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGA CTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAAC AGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAG CGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGG AGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAA GGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAA	

	CAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGT CGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGA AAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGA ACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTT CCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTA CCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAA CAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAA GTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACT GTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACACC GGAAAGCGTCAGCGGATGGAGACTGTTCAAGAAGATCAGCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAG AAAGAAAATGAAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTT AATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	
transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con HiBiT tag, HBB 5′ UTR y ALB 3′ UTR humano	GGGACATTTGCTTCTGACACAACTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACCGGATCTCGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGA CTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACA GACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCA AGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTC CACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATAC CACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTG GCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTG GTCCAGACATACAACCAGCTGTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAG AGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTG ACACCGAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTG CTGGCACAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTC AACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTG GTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGC CAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTG CTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGAC TTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGA AACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCA CAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTC ACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATC GTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTC GAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGAC AACGAAGAAAACGAAGACATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACA	184

	TACGCACACCTGTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAAC GGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCAC GACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCA GGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAAC ATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATC AAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAAC GGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAG GACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAG ATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTG AGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGA ATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAG GACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATC AAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAA ATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGA AAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGC ATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAG CTGATCGCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAG GTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCG ATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAAC GGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTG GCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAA ATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGA GACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGAC ACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACA AGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACACCGGAAAGCGTC AGCGGATGGAGACTGTTCAAGAAGATCAGCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATG AAGATCAATAGCTTATTCATCTCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTG CCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	
transcripto de ARNm con ORF que codifica Cas9 con HiBiT tag, XBG 5′ UTR y ALB 3′ UTR humano	GGGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGCCGGATCTCGCCACCATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGC GTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAG AACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGA AAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTC CTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATC TACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGA	185

	GGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTG TTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTG ATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAAC TTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGATCGGAGACCAG TACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTCAACACAGAAATCACAAAGGCA CCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAA AAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTC ATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTC GACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGAC AACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATG ACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATG ACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACA AAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACA AACAGAAAGGTCACAGTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGAC AGATTCAACGCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATC CTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGACGAC AAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGC GGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAG GAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAG GGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGA GAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATC CTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGAC CAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAG GTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACAACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAG CTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGA TTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAA AACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTC AGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAA AGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAG TACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACA AACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTC AAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAGGAC TGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCGAAAAGGGAAAGAGCAAG AAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAG GGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCA	

	AGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTG AAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAA TTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAG GCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGA TACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTG GGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCAGCGAAAGCGCAACACCGGAAAGCGTCAGCGGATGGAGACTGTTCAAG AAGATCAGCTAGCTAGCCATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGAGAATAAGAGAAAGAAAATGAAGATCAATAGCTTATTCATC TCTTTTTCTTTTTCGTTGGTGTAAAGCCAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAATCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAA TTAATAAAAAATGGAAAGAACCTCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	
Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS1	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEM AKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDT YDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPY YVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFL SGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL HEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLN AVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF ATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME RSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSLAAKRSRTT	186
Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS2	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEM AKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDT YDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPY YVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFL SGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL HEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK	187

	LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLN AVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF ATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME RSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSQAAKRSRTT	
Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS3	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEM AKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDT YDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPY YVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFL SGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL HEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLN AVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF ATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME RSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSPAPAKRERTT	188
Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS4	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEM AKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDT YDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPY YVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFL SGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL HEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLN AVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF	189

	ATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME RSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSQAAKRPRTT	
Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS5	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEM AKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDT YDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPY YVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFL SGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL HEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLN AVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF ATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME RSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSRAAKRPRTT	190
Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS6	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEM AKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDT YDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPY YVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFL SGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL HEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLN AVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF ATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME RSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ	191

	SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSAAAKRSWSMAA	
Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS7	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEM AKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDT YDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPY YVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFL SGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL HEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLN AVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF ATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME RSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSAAAKRVWSMAF	192
Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS8	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEM AKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDT YDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPY YVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFL SGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL HEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLN AVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF ATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME RSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSAAAKRSWSMAF	193

Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS9	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEM AKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDT YDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPY YVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFL SGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL HEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLN AVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF ATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME RSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSAAAKRKYFAA	194
Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS10	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEM AKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDT YDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPY YVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFL SGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL HEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLN AVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF ATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME RSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSRAAKRKAFAA	195
Secuencia de aminoácidos para Cas9 con NLS11	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEM AKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDT	196

	YDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPY YVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFL SGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL HEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEK LYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLN AVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF ATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME RSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSRAAKRKYFAV	

*** = ligación de PS; 'm' = nucleótido 2'–O–Me**