

ARN GUÍA MODIFICADOS PARA LA EDICIÓN GÉNICA

[001] La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la solicitud provisional estadounidense n.º 63/275,426 presentada el 3 de noviembre de 2021, y la solicitud provisional estadounidense n.º 63/352,161 presentada el 14 de junio de 2022, cuyos contenidos se incorporan mediante referencia en su totalidad.

[002] La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que se presentó de forma electrónica en formato ASCII y se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia. Dicha copia ASCII, creada el 1 de noviembre de 2022, lleva el nombre 01155-0048-00PCT_ST26 y tiene un tamaño de 1.429.694 bytes.

[003] La presente descripción se relaciona con el campo de la edición del genoma con sistemas CRISPR/Cas9, una parte del sistema inmunitario procariota que reconoce y corta elementos genéticos exógenos.

[004] El sistema CRISPR/Cas9 se basa en una única nucleasa, denominada proteína 9 asociada a CRISPR (Cas9), que induce roturas específicas de un sitio en el ADN. Cas9 es guiada a secuencias de ADN específicas mediante pequeñas moléculas de ARN denominadas ARN guía (ARNg). Un ARN guía completo comprende ARNtracr (ARNtr) y ARNcrispr (ARNcr). Un ARNcr que comprende una región guía también puede denominarse ARNg, entendiendo que para formar un ARNg completo debe estar asociado de forma covalente o no covalente con un ARNtr. El ARNtr y el ARNcr pueden estar contenidos dentro de un ARN guía único (ARNgu) o en dos moléculas de ARN separadas de un ARN guía doble (ARNgd). Cas9 en combinación con ARNg se denomina complejo de ribonucleoproteína Cas9 (RNP).

[005] Los sistemas CRISPR/Cas9 existen en varias especies bacterianas y pueden tener diferentes propiedades, incluso con respecto a la longitud del ARNg y el grado de especificidad de secuencia en la escisión. La Cas9 de *Neisseria meningitidis* (NmeCas9) tiene una tasa de escisión fuera del objetivo ventajosamente baja, pero utiliza ARNg relativamente largos, lo que complica la síntesis de ARNg in vitro.

[006] Los oligonucleótidos, y en particular el ARN, a veces se degradan en las células y en el suero mediante escisión no enzimática, endonucleasa o exonucleasa. Los oligonucleótidos se pueden sintetizar con modificaciones en diversas posiciones para reducir o prevenir dicha degradación. Dada la naturaleza cíclica y el rendimiento imperfecto de la síntesis de oligonucleótidos, sería deseable acortar el ARNg mientras se retiene o incluso mejora su actividad, por ejemplo, de forma tal que el ARNg pueda obtenerse en un mayor rendimiento, o las composiciones que comprendan ARNg tengan una mayor homogeneidad o menos productos incompletos o erróneos. Además, se desean métodos y composiciones mejorados para prevenir dicha degradación, mejorar la estabilidad de los ARNg y mejorar la eficacia de la edición del genoma, especialmente para aplicaciones terapéuticas. La presente descripción tiene como objetivo satisfacer una o más de estas necesidades, proporcionar otros beneficios o al menos brindar al público una opción útil.

COMPENDIO

[007] La presente descripción se relaciona con la edición de genes utilizando sistemas CRISPR/Cas9 de *Neisseria meningitidis*. NmeCas9 es más pequeño que la Cas9 de *Streptococcus pyogenes* (SpyCas9), lo que permite que NmeCas9 sea adecuado para métodos de administración basados en ARN mensajero (ARNm). Sin embargo, NmeCas9 forma una RNP con un ARNg que es más largo que el ARN guía de SpyCas9. El ARNg utilizado convencionalmente para NmeCas9 tiene una longitud de 145 o más nucleótidos (Ibraheim et al. Genome Biology (2018) 19:137) y sería deseable acortar el ARNg mientras se conserva o incluso mejora su actividad para prevenir la degradación y

mejorar la estabilidad de ARNg y mejora de la eficacia de la edición de genes.

[008] En algunas modalidades, se proporcionan herramientas de edición del genoma que comprenden ARN guía (ARNg) con una o más regiones acortadas como se describe en la presente. Las regiones acortadas descritas en el presente documento pueden facilitar la síntesis del ARNg con mayor rendimiento u homogeneidad, o pueden mejorar la estabilidad del ARNg y el complejo ARNg/Cas9, o mejorar la actividad de Cas9 para escindir el ADN objetivo.

[009] En algunas modalidades, se proporcionan ARNcrispr (ARNcr) o ARNtracr (ARNtr) con una o más regiones o sustituciones acortadas como se describen en la presente. En algunas modalidades, el ARN guía doble (ARNgd) comprende el ARNcr modificado o el ARNtr modificado. En algunas modalidades, el ARN guía único (ARNgu) comprende el ARNcr modificado o ARNtr modificado. Las regiones o sustituciones acortados descritas en el presente documento pueden facilitar la síntesis del ARNg con mayor rendimiento u homogeneidad, o pueden mejorar la estabilidad del ARNg y el complejo ARNg/Cas9, o mejorar la actividad de NmeCas9 para escindir el ADN objetivo. En comparación con los ARNgu de 145 unidades de NmeCas9, la síntesis de los ARNg actualmente descritos puede aumentar el rendimiento bruto de un ARNg. De manera similar, se puede aumentar la pureza de la muestra de ARNg medida por la proporción de producto de longitud completa, por ejemplo, pureza en bruto. El ARN guía se puede obtener con mayor rendimiento, o las composiciones que comprenden el ARNg pueden tener una mayor homogeneidad o menos productos incompletos o erróneos. La pureza del ARN guía se puede evaluar utilizando cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa de pares iónicos (IP-RP-HPLC) y métodos de HPLC de intercambio iónico, por ejemplo, como en Kanavarioti et al, Sci Rep **9**, 1019 (2019) (doi:10.1038/s41598-018-37642-z). Usando espectroscopía UV a una longitud de onda de 260 nm, la pureza en bruto y la pureza final se pueden determinar mediante la relación entre la absorbancia del pico principal y la absorbancia acumulada de todos los picos en el cromatograma. El rendimiento sintético se determina como la relación entre la absorbancia a 260 nm de la muestra final en comparación con la absorbancia teórica de los materiales de entrada.

[0010] Se abarcan las siguientes modalidades.

[0011] En algunas modalidades, se proporciona un ARN guía (ARNg), el ARN guía comprende una región guía y una región conservada, la región conservada comprende uno o más de:

(a) una región de repetición/ antirrepetición acortada, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos, donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 37-48 y 53-64 y opcionalmente uno o más de nucleótidos 37-64 se sustituyen con respecto a las SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante al menos 2 nucleótidos; o

(b) una región de horquilla 1 acortada, donde la horquilla 1 acortada carece de 2-10, opcionalmente, 2 a 8 nucleótidos, donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 82-86 y 91-95 y opcionalmente una o más posiciones 82-96 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante al menos 4 nucleótidos; o

(c) una región de horquilla 2 acortada, donde la horquilla 2 acortada carece de 2-18, opcionalmente, 2-16 nucleótidos, donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 113-121 y 126-134 y opcionalmente uno o más nucleótidos 113-134 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 112 está unido al nucleótido 135 mediante al menos 4 nucleótidos;

donde se eliminan uno de los nucleótidos 144-145 o ambos opcionalmente con respecto a la SEQ ID NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos son nucleótidos modificados.

[0012] En algunas modalidades, se proporciona un ARN guía (ARNg), el ARN guía comprende una región guía y una región conservada, la región conservada comprende uno o más de:

(a) una región de repetición/antirrepetición acortada, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 18-22 nucleótidos con respecto a la SEQ ID NO: 500, donde

(i) se eliminan los nucleótidos 37-48 y 53-64; y

(ii) el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante al menos 6-10 nucleótidos; o

(b) una región de horquilla 1 acortada, donde la horquilla 1 acortada carece de 2 nucleótidos, donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 o se eliminan los nucleótidos 85 y 92 con respecto a la SEQ ID NO: 500; o

(c) una región de horquilla 2 acortada, donde la horquilla 2 acortada carece de 18 nucleótidos, donde se eliminan los nucleótidos 113-121 y 126-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y donde se eliminan los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500; donde al menos 10 nucleótidos son nucleótidos modificados.

[0013] El ARN guía (ARNg) de la modalidad anterior que comprende una región guía y una región conservada, la región conservada comprende:

(a) una región de repetición/antirrepetición acortada, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 18-22 nucleótidos, donde

(i) los nucleótidos 37-48 y 53-64 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante 6-10 nucleótidos;

(b) una región de horquilla 1 acortada, donde la horquilla 1 acortada no tiene 2 nucleótidos con respecto a la SEQ ID NO: 500, donde los nucleótidos 86 y 91 se eliminan o los nucleótidos 85 y 92 se eliminan;

(c) una región de horquilla 2 acortada, donde la horquilla acortada 2 no tiene 18 nucleótidos, donde se eliminan los nucleótidos 113-121 y 126-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(d) donde los nucleótidos 144-145 se eliminan con respecto a la SEQ ID NO: 500; donde al menos 10 nucleótidos son nucleótidos modificados.

[0014] En modalidades adicionales, la región de repetición/antirrepetición acortada, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 22 nucleótidos con respecto a la SEQ ID NO: 500. En modalidades adicionales, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante una secuencia que comprende la secuencia de nucleótidos UGAAAC. En modalidades adicionales, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 por 10 nucleótidos. En modalidades adicionales, el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante una secuencia que comprende la secuencia de nucleótidos UUCGAAAGAC (SEQ ID NO: 950).

[0015] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en el extremo 5'. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en el extremo 3'. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en el extremo 5' y una modificación en el extremo 3'. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en la región de horquilla 1. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en la región de horquilla 2.

[0016] En algunas modalidades, cualquiera de las anteriores modificaciones es un nucleótido modificado se selecciona de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-flúor (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, o un nucleótido modificado abásico invertido, opcionalmente donde el ARNg comprende al menos dos modificaciones independientemente seleccionadas de un nucleótido

modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado 2'-flúor (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, y un nucleótido modificado abásico invertido.

[0017] En algunas modalidades, la modificación en el extremo 5' comprende un nucleótido modificado seleccionado de (i) un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), (ii) un nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), (iii) un nucleótido modificado con 2'-flúor (2'-F), (iv) un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, o (v) un nucleótido modificado abásico invertido, opcionalmente, donde el ARNg comprende al menos dos modificados en el extremo 5' independientemente seleccionadas de (i)-(v).

[0018] En algunas modalidades, la modificación en el extremo 3' comprende un nucleótido modificado seleccionado de (i) un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), (ii) un nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), (iii) un nucleótido modificado con 2'-flúor (2'-F), (iv) un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, o (v) un nucleótido modificado abásico invertido, opcionalmente, donde el ARNg comprende al menos dos modificaciones en el extremo 3' independientemente seleccionadas de (i)-(v).

[0019] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende:

- i. una modificación de uno o más de los primeros 1-4 nucleótidos, en donde la modificación es un enlace de PS, un nucleótido abásico invertido, 2'-OMe, 2'-O-moe, o 2'-F;
 - ii. una modificación del primer nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe o 2'-F, y uno o dos enlaces de PS opcionales al siguiente nucleótido o el primer nucleótido de la cola 3';
 - iii. una modificación del primer o segundo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS;
 - iv. una modificación al primer, segundo y tercer nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe o 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS; o
 - v. una modificación al primer, segundo, tercer o cuarto nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS,
- opcionalmente, donde el ARNg comprende al menos dos modificaciones del extremo 5' seleccionadas independientemente de (i)-(v).

[0020] El ARNg de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la modificación del extremo 3' comprende:

- i. una modificación de uno o más de los últimos 1-4 nucleótidos, en donde la modificación es un enlace de PS, un nucleótido abásico invertido, 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estas;
 - ii. una modificación del último nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F y uno o dos enlaces de PS opcionales al nucleótido siguiente o el primer nucleótido de la cola 3';
 - iii. una modificación del último o penúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS;
 - iv. una modificación del último, penúltimo o antepenúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS; o
 - v. una modificación del último, penúltimo, antepenúltimo o anterior al antepenúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS,
- opcionalmente, donde el ARNg comprende al menos dos modificaciones del extremo 3' seleccionadas independientemente de (i)-(v).

[0021] En algunas modalidades, la modificación en la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1 o la región de horquilla 2 comprende un nucleótido modificado seleccionado de (i) nucleótido modificado 2'-O-metilo (2'-OMe), (ii) nucleótido modificado 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), (iii)

un nucleótido modificado 2'-flúor (2'-F) o (iv) un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, opcionalmente donde la modificación en la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1 o la región de horquilla 2 comprende al menos dos modificaciones independientemente seleccionadas de (i)-(iv).

5 [0022] En algunas modalidades, la modificación en la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1, o la región de horquilla 2 comprende un nucleótido modificado de (i) un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), (ii) un nucleótido modificado con 2'-flúor (2'-F), o (iii) un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, opcionalmente donde la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1 o la región de horquilla 2 comprende al menos dos modificaciones independientemente seleccionadas de (i)-(iii).

10 [0023] En algunas modalidades, la modificación en la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1 o la región de horquilla 2 comprende un nucleótido modificado seleccionado de (i) nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe) o (ii) un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, opcionalmente donde la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1 o la región de horquilla 2 comprende al menos modificaciones independientemente seleccionadas de (i) y (ii).

15 [0024] En algunas modalidades, se proporciona una composición que comprende un ARNg asociado con una nanopartícula lipídica (LNP) descrita en el presente documento. En algunas modalidades, se proporciona una composición de LNP que comprende un ARNg descrito en el presente documento. En algunas modalidades, la composición comprende además una nucleasa o un ARNm que codifica la nucleasa.

[0025] En el presente documento se proporcionan las siguientes modalidades adicionales.

[0026] La modalidad 1 es un ARN guía (ARNg) que comprende una región guía y una región conservada, la región conservada comprende una o más de:

25 (a) una región de repetición/antirrepetición acortada, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos, donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 37-48 y 53-64 y opcionalmente, se sustituyen uno o más de los nucleótidos 37-64 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante al menos 2 nucleótidos; o

30 (b) una región de horquilla 1 acortada, donde la horquilla 1 acortada carece de 2-10, opcionalmente, 2-8 nucleótidos, donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 82-86 y 91-95 y, opcionalmente una o más de las posiciones 82-96 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante al menos 4 nucleótidos; o

35 (c) una región de horquilla 2 acortada, donde la horquilla 2 acortada carece de 2-18, opcionalmente, 2-16 nucleótidos, donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 113-121 y 126-134 y opcionalmente se sustituyen uno o más de los nucleótidos 113-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 112 está unido al nucleótido 135 mediante al menos 4 nucleótidos;

40 donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos son nucleótidos modificados.

[0027] La Modalidad 2 es el ARNg de la Modalidad 1, donde el ARNg es un ARN de guía único (ARNgu) y donde el ARNg comprende (a) una región repetitiva/antirrepetición acortada, donde la región repetitiva/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos, donde

45 (i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 37-48 y 53-64 y opcionalmente se sustituyen uno o más

nucleótidos 37-64 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante al menos 2 nucleótidos.

[0028] La Modalidad 3 es el ARNg de la Modalidad 1 o 2, donde la región guía tiene (i) una inserción de un nucleótido o la eliminación de 1-4 nucleótidos dentro de las posiciones 1-24 con respecto a la SEQ ID NO: 500, o (ii) una longitud de 24 nucleótidos.

[0029] La Modalidad 4 es el ARNg de la Modalidad 3, donde la región guía tiene una longitud de 25, 24, 23, 22, 21 o 20 nucleótidos, opcionalmente donde la región guía tiene una longitud de 25, 24, 23 o 22 nucleótidos.

[0030] La Modalidad 5 es el ARNg de la Modalidad 4, donde la región guía tiene una longitud de 23-24 nucleótidos.

[0031] La Modalidad 6 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-5, donde el ARNg comprende adicionalmente una cola 3'.

[0032] La Modalidad 7 es el ARNg de la Modalidad 6, donde la cola 3' comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleótidos.

[0033] La Modalidad 8 es el ARNg de la Modalidad 7, donde la cola 3' comprende 1, 2, 3, 4 o 5 nucleótidos.

[0034] La Modalidad 9 es el ARNg de cualquiera de las Modalidad 6-8, donde la cola 3' termina con un nucleótido que comprende un uracilo o uracilo modificado.

[0035] La Modalidad 10 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 6-9, donde la cola 3' tiene 1 nucleótido de longitud.

[0036] La Modalidad 11 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 6-10, donde la cola 3' consiste en un nucleótido que comprende un uracilo o un uracilo modificado.

[0037] La Modalidad 12 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 6-11, donde la cola 3' comprende una modificación de cualquiera de uno o más de los nucleótidos presentes en la cola 3'.

[0038] La Modalidad 13 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 6-12, donde la modificación de la cola 3' es uno o más de nucleótidos modificados con 2'-O-metilo (2'-OMe) y un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[0039] La Modalidad 14 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 6-13, donde la cola 3' se encuentra totalmente modificada.

[0040] La modalidad 15 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-14, donde el nucleótido 3' del ARNg es un nucleótido que comprende un uracilo o un uracilo modificado.

[0041] La Modalidad 16 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-5, donde se eliminan uno o más de los nucleótidos 144 y 145 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[0042] La Modalidad 17 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-5, donde se eliminan ambos nucleótidos 144 y 145 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[0043] La Modalidad 18 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-5, donde el ARN no comprende una cola 3'.

[0044] La Modalidad 19 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-18, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos.

[0045] La Modalidad 20 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-19, donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 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.

[0046] La Modalidad 21 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-20, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 12-24, opcionalmente 18-24 nucleótidos, opcionalmente 20-22 nucleótidos.

[0047] La Modalidad 22 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-21, donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos.

[0048] La Modalidad 23 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-22, donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 28, 29, 30, 31, 32, 33 o 34 nucleótidos, o 30, 31 o 32 nucleótidos.

[0049] La Modalidad 24 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-23, donde los nucleótidos 37-64 de la SEQ ID NO: 500 forman el tallo superior, y se eliminan uno o más pares de base del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada.

[0050] La Modalidad 25 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-24, donde el tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada comprende no más de uno, dos, tres o cuatro pares de bases.

[0051] La Modalidad 26 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-25, donde todas las posiciones 39-48 y se eliminan todas las posiciones 53-62 del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada, y se sustituye opcionalmente el nucleótido 38 o 63.

[0052] La Modalidad 27 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-26, donde se eliminan todas las posiciones 38-48 y todas las posiciones 53-63 del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada, y se sustituye opcionalmente el nucleótido 37 o 64.

[0053] La Modalidad 28 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-27, donde se eliminan todos los nucleótidos 37-48 y 53-64 del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada, y se sustituyen opcionalmente los nucleótidos 36 o 65.

[0054] La Modalidad 29 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-28, donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una parte de dúplex de 11 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.

[0055] La Modalidad 30 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-29, donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una única parte de dúplex.

[0056] La Modalidad 31 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-29, donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una primera parte de dúplex y una segunda parte de dúplex.

[0057] La Modalidad 32 es el ARNg de la Modalidad 31, donde la segunda parte de dúplex tiene 2-3 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.

[0058] La Modalidad 33 es el ARNg de la Modalidad 31, donde la primera parte de dúplex tiene 11 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud y la segunda parte de dúplex tiene 3 nucleótidos con emparejamiento de base de longitud.

[0059] La Modalidad 34 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-33, donde el tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada incluye una o más sustituciones con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[0060] La Modalidad 35 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-34, donde uno o más de los nucleótidos 49-52 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[0061] La Modalidad 36 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-33, donde la región de repetición/antirrepetición acortada no se encuentra sustituida.

[0062] La Modalidades 37 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-36, donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene 12-22 nucleótidos modificados.

[0063] La Modalidad 38 es el ARNg de la Modalidad 37, donde la región de repetición/antirrepetición acortada no comprende una modificación en el nucleótido 76.

[0064] La Modalidad 39 es el ARNg de la Modalidad 37, donde la repetición/antirrepetición

acortada no comprende una modificación de fosforotioato (PS) en el nucleótido 76.

[0065] La Modalidad 40 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-39, donde la región de horquilla 1 acortada carece de 2-10 nucleótidos, opcionalmente 2-8 o 2-4 nucleótidos.

[0066] La Modalidad 41 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-40, donde la región de horquilla 1 acortada tiene una longitud de 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 nucleótidos.

[0067] La Modalidad 42 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-41, donde la región de horquilla acortada 1 tiene una parte de dúplex de 4-8, opcionalmente de 7-8 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.

[0068] La Modalidad 43 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-41, donde la región de horquilla 1 acortada tiene una única parte de dúplex.

[0069] La Modalidad 44 es la ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-43, donde se eliminan uno o dos pares de bases de la región de horquilla 1 acortada.

[0070] La Modalidad 45 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-44, donde el tallo de la región de horquilla 1 acortada tiene siete u ocho nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.

[0071] La Modalidad 46 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-45, donde se eliminan una o más posiciones 85-86 y se eliminan uno o más de los nucleótidos 91-92 de la región de horquilla acortada 1.

[0072] La Modalidad 47 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-46, donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 o nucleótidos 85 y 92 de la región de horquilla 1 acortada.

[0073] La Modalidad 48 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-47, donde se sustituyen uno o más de los nucleótidos 82-95 de la región de horquilla 1 acortada con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[0074] La Modalidad 49 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-48, donde se sustituyen uno o más nucleótidos 87-90 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[0075] La Modalidad 50 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-48, donde no se sustituye la región de horquilla 1 acortada.

[0076] La Modalidad 51 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-49, donde la región de horquilla acortada 1 tiene 6-15 nucleótidos modificados.

[0077] La Modalidad 52 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-50, donde la región de horquilla 2 acortada carece de 2-18, opcionalmente 2-16 nucleótidos.

[0078] La Modalidades 53 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-51, donde la región de horquilla 2 acortada tiene una longitud de 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos.

[0079] La Modalidad 54 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-52, donde la región de horquilla 2 acortada tiene una longitud de 28, 29, 30, 31, 32, 33, o 34 nucleótidos.

[0080] La Modalidad 55 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-53, donde se eliminan uno o más de los nucleótidos 113-121 y uno o más de los nucleótidos 126-134 de la región de horquilla 2 acortada.

[0081] La Modalidad 56 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-54, donde la región de horquilla 2 acortada comprende una región no emparejada.

[0082] La Modalidad 57 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-55, donde la región de horquilla 2 acortada tiene dos partes de dúplex.

[0083] La Modalidad 58 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-56, donde la región de horquilla 2 acortada tiene una parte de dúplex de 4 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.

[0084] La Modalidad 59 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 57-58, donde la región de horquilla 2 acortada tiene una parte de dúplex de 4-8 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.

[0085] La Modalidad 60 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 57-59, donde la región de horquilla 2 acortada tiene una parte de dúplex de 4-6 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.

[0086] La Modalidad 61 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-60, donde los nucleótidos 109-138 de la SEQ ID NO: 500 forman el tallo superior, y el tallo superior de la región de horquilla 2 acortada comprende uno, dos, tres o cuatro pares de base.

[0087] La Modalidad 62 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-61, donde se elimina al menos un par de nucleótidos 113 y 134, nucleótidos 114 y 133, nucleótidos 115 y 132, nucleótidos 116 y 131, nucleótidos 117 y 130, nucleótidos 118 y 129, los nucleótidos 119 y 128, los nucleótidos 120 y 127 y los nucleótidos 121 y 126.

[0088] La Modalidad 63 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-62, donde se eliminan todas las posiciones 113-121 y 126-134 de la región de horquilla 2 acortada.

[0089] La Modalidad 64 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-63, donde uno o más de los nucleótidos 113-134 de la región de horquilla 2 acortada se sustituye con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[0090] La Modalidad 65 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-64, donde uno o más nucleótidos 122-125 se sustituye con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[0091] La Modalidad 66 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-64, donde no se sustituye la región de horquilla acortada 2.

[0092] La Modalidad 67 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-66, donde la región de horquilla 2 acortada tiene 6-15 nucleótidos modificados.

[0093] La Modalidad 68 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-67, donde la región guía del ARNg comprende al menos dos nucleótidos modificados, opcionalmente al menos cuatro nucleótidos modificados.

[0094] La Modalidad 69 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-68, donde la región guía del ARNg comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 nucleótidos modificados, opcionalmente, 1, 2 o 3 nucleótidos modificados.

[0095] La Modalidad 70 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-69, donde la región guía del ARNg comprende 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 nucleótidos modificados.

[0096] La Modalidad 71 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-70, donde la región guía del ARNg comprende 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 nucleótidos modificados.

[0097] La Modalidad 72 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-71, donde la región guía no comprende un nucleótido modificado en 3' de los primeros tres nucleótidos de la región guía.

[0098] La Modalidad 73 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-66, donde la región guía no comprende un nucleótido modificado.

[0099] La Modalidad 74 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-72, donde el ARNg comprende una modificación de extremo 5'.

[00100] La Modalidad 75 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-74, donde el ARNg comprende una modificación de extremo 3'.

[00101] La Modalidad 76 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-75, donde el ARNg comprende una modificación de extremo 5' y una modificación de extremo 3'.

[00102] La Modalidad 77 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-76, que comprende una

modificación en la región del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición.

[00103] La Modalidad 78 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-77, que comprende una modificación en la región de horquilla 1.

[00104] La Modalidad 79 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-78, que comprende una modificación en la región de horquilla 2.

[00105] La Modalidad 80 es el ARNg de la Modalidad 79, donde la modificación en la región de horquilla 2 comprende una modificación en 1, 2, 3 o 4 nucleótidos de los nucleótidos 106-109.

[00106] La Modalidad 81 es el ARNg de la Modalidad 80, donde la modificación en la región de horquilla 2 comprende una modificación en cada uno de los nucleótidos 106-109.

[00107] La Modalidad 82 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 80 u 81, donde la modificación comprende una modificación con 2'-O-metilo (2'-O-Me).

[00108] La Modalidad 83 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-82, que comprende una modificación en el extremo 3' y que comprende una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición.

[00109] La Modalidad 84 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-83, que comprende una modificación en el extremo 3', y una modificación en la región de horquilla 1.

[00110] La Modalidad 85 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-83, que comprende una modificación en el extremo 3', y una modificación en la región de horquilla 2.

[00111] La Modalidad 86 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-85, que comprende una modificación en el extremo 5', y que comprende una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición.

[00112] La Modalidad 87 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-86, que comprende una modificación en el extremo 5', y una modificación en la región de horquilla 1.

[00113] La Modalidad 88 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-87, que comprende una modificación en el extremo 5', y una modificación en la región de horquilla 2.

[00114] La Modalidad 89 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-88, que comprende una modificación en el extremo 5', una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición, y una modificación de extremo 3'.

[00115] La Modalidad 90 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-89, que comprende una modificación en el extremo 5', una modificación en la región de horquilla 1, y una modificación en el extremo 3'.

[00116] La Modalidad 91 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-90, que comprende una modificación de extremo 5', una modificación en la región de horquilla 1, una modificación en la región de horquilla 2 y una modificación en el extremo 3'.

[00117] La Modalidad 92 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-91, que comprende una modificación de extremo 5', una modificación en la región de repetición/antirrepetición, una modificación en la región de horquilla 1, una modificación en la región de horquilla 2 y una modificación de extremo 3'.

[00118] La Modalidad 93 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-92, donde la modificación en la región de repetición/antirrepetición no comprende una modificación de fosforotioato (PS) en el nucleótido 76.

[00119] La Modalidad 94 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-93, donde la modificación en la región de repetición/antirrepetición no comprende una modificación en el nucleótido 76.

[00120] La Modalidad 95 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 74-94, donde la

modificación en el extremo 5' comprende un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, o un nucleótido abásico invertido modificado.

5 [00121] La Modalidad 96 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 74-95, donde la modificación de extremo 3' comprende un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, un nucleótido modificado abásico invertido.

10 [00122] La Modalidad 97 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 74-96, donde la modificación en el extremo 5' comprende cualquiera de:

- i. una modificación de cualquiera de uno o más de los primeros 1, 2, 3, o 4 nucleótidos;
- ii. un nucleótido modificado;
- iii. dos nucleótidos modificados;
- 15 iv. tres nucleótidos modificados; y
- v. cuatro nucleótidos modificados.

[00123] La Modalidad 98 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 74-97, donde la modificación de extremo 5' comprende uno o más de:

- i. un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos;
- 20 ii. un nucleótido modificado con 2'-OMe;
- iii. un nucleótido modificado con 2'-O-moe;
- iv. un nucleótido modificado con 2'-F; y
- v. un nucleótido modificado abásico invertido.

25 [00124] La Modalidad 99 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 74-98, donde la modificación en el extremo 3' comprende cualquiera de:

- i. una modificación de uno o más de los últimos 4, 3, 2 o 1 nucleótidos;
- ii. un nucleótido modificado;
- iii. dos nucleótidos modificados;
- iv. tres nucleótidos modificados; y
- 30 v. cuatro nucleótidos modificados.

[00125] La Modalidad 100 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 74-99, donde la modificación de extremo 3' comprende uno o más de:

- i. un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos;
- ii. un nucleótido modificado con 2'-OMe;
- 35 iii. un nucleótido modificado con 2'-O-moe;
- iv. un nucleótido modificado con 2'-F; y
- v. un nucleótido modificado abásico invertido.

[00126] La Modalidad 101 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 74-100, donde la modificación de extremo 5' comprende al menos un enlace de PS y donde uno o más de:

- 40 i. existe un enlace de PS y el enlace se encuentra entre el primer y el segundo nucleótidos;
- ii. existen dos enlaces de PS entre los primeros tres nucleótidos;
- iii. existen enlaces de PS entre cualesquiera uno o más de los primeros cuatro nucleótidos; y
- iv. existen enlaces de PS entre cualesquiera uno o más de los últimos cinco nucleótidos.

[00127] La Modalidad 102 es el ARNg de la Modalidad 101, donde la modificación en el extremo

45 5' también comprende al menos un nucleótido modificado con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F o abásico

invertido.

[00128] La Modalidad 103 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-102, donde la modificación en el extremo 5' comprende:

- i. una modificación de uno o más de los primeros 1-4 nucleótidos, donde la modificación es un enlace de PS, un nucleótido abásico invertido, 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F;
- ii. una modificación del primer nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe o 2'-F, y uno o dos enlaces de PS opcionales al nucleótido siguiente o el primer nucleótido de la cola 3';
- iii. una modificación del primer o segundo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS;
- iv. una modificación del primer, segundo o tercer nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS; o
- v. una modificación del primer, segundo, tercer o cuarto nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe o 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS.

[00129] La Modalidad 104 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-103, donde la modificación de extremo 3' comprende al menos un enlace de PS y donde uno o más de:

- i. hay un enlace de PS y el enlace es entre el último y el penúltimo nucleótidos;
- ii. hay dos enlaces de PS entre los últimos tres nucleótidos y
- iii. hay enlaces de PS entre cualquiera de uno o más de los últimos cuatro nucleótidos.

[00130] La Modalidad 105 es el ARNg de la Modalidad 104, donde la modificación en el extremo 3' comprende adicionalmente al menos un nucleótido modificado con 2'-Ome, 2'-O-moe, 2'-F o abásico invertido.

[00131] La Modalidad 106 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-105, donde la modificación en el extremo 3' comprende:

- i. una modificación de uno o más de los últimos 1-4 nucleótidos, donde la modificación es un enlace de PS, un nucleótido abásico invertido, 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F;
- ii. una modificación del último nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y uno o dos enlaces de PS opcionales al nucleótido siguiente o el primer nucleótido de la cola 3';
- iii. una modificación del último o penúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS;
- iv. una modificación del último, penúltimo o antepenúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS; o
- v. una modificación del último, penúltimo, antepenúltimo o anterior al antepenúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS.

[00132] La Modalidad 107 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-106, donde la modificación en la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1 o la región de horquilla 2 comprende un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F) o un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00133] La modalidad 108 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-106, donde la modificación en la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1, o la región de horquilla 2 comprende un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F) o un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00134] La modalidad 109 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-106, donde la modificación en la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1, o la región de horquilla 2 comprende un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-

OMe), o un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00135] La Modalidad 110 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-109, donde la modificación en la región de repetición/antirrepetición no comprende una modificación de fosforotioato en el nucleótido 76.

5 [00136] La Modalidad 111 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-110, donde la modificación en la región de repetición/antirrepetición no comprende una modificación en el nucleótido 76.

[00137] La Modalidad 112 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-111, donde al menos el 20 % 30 %, 40 % o 50 % de los nucleótidos son nucleótidos modificados.

10 [00138] La Modalidad 113 es el ARNg de la Modalidad 112, donde el ARNg comprende nucleótidos modificados seleccionados de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos o combinaciones de estos.

[00139] La Modalidad 114 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-113, donde la
15 modificación comprende una modificación en 1, 2, 3 o 4 nucleótidos de los nucleótidos 106-109.

[00140] La Modalidad 115 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 113 o 114, donde la modificación comprende una modificación en cada uno de los nucleótidos 106-109.

[00141] La Modalidad 116 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 114-115, donde la modificación comprende una modificación con 2'-O-metilo.

20 [00142] La Modalidad 117 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 112-116, donde el ARNg comprende nucleótidos modificados seleccionados de nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-Ome), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, o combinaciones de estos.

[00143] La Modalidad 118 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-117, donde los
25 nucleótidos 1-3 de la región guía están modificados y los nucleótidos en la región guía distintos de los nucleótidos 1-3 no están modificados.

[00144] La Modalidad 119 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-118, donde una cola 3' del nucleótido 144 está presente en el ARNg y comprende nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 141-144 y dos enlaces de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143, respectivamente.

30 [00145] La Modalidades 120 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-120, donde una o más posiciones de 49-52, 87-90 o 122-125 están sustituidas.

[00146] La Modalidad 121 es un ARN guía único (ARNgu) que comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 1-19 y 21-42.

[00147] La Modalidad 122 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-121, que comprende
35 una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 o 70 % de identidad con respecto a la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-19 y 21-42.

[00148] La Modalidad 123 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-121, que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 o
40 70 % de identidad con respecto a la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-19 y 21-42, donde la modificación en cada nucleótido del ARNg que corresponde a un nucleótido del identificador de la secuencia de referencia en la Tabla 1 es idéntica a o equivalente a la modificación mostrada en el identificador de la secuencia de referencia en la Tabla 2.

[00149] La Modalidad 124 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-122, que comprende
45 una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91 o 90 % de identidad

con respecto a la secuencia de X al extremo 3' de la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-5, 7, 8, 11, 12, 13, 15, 16, 18, 19, 21, 23, 24, 26, 27, 28, 30, 31, 33, 34, 35, 37, 39, 41, 101-291, 301-494, 931-946, 951 y 952, donde X es el primer nucleótido de la región conservada.

[00150] La Modalidad 125 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 121-124, que comprende adicionalmente una cola 3' que comprende un nucleótido modificado con 2'-O-Me.

[00151] La Modalidad 126 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-125, donde el ARNg dirige una nucleasa hacia una secuencia objetivo para la unión.

[00152] La Modalidad 127 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-126, donde el ARNg dirige una nucleasa hacia una secuencia objetivo para inducir una rotura bicatenaria dentro de la secuencia objetivo.

[00153] La Modalidad 128 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-127, donde el ARNg dirige una nucleasa hacia una secuencia objetivo para inducir una rotura monocatenaria dentro de la secuencia objetivo.

[00154] La Modalidad 129 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 126-129, donde la nucleasa es una Nme Cas9.

[00155] La Modalidad 130 es el ARNg de una cualquiera de las Modalidades 1-129, donde el ARNg comprende una sustitución conservadora, opcionalmente en el que la sustitución conservadora mantiene al menos un par de bases.

[00156] La Modalidad 131 es una composición que comprende una ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-130, relacionada con una nanopartícula lipídica (LNP).

[00157] Modalidad 132. Una composición de LNP que comprende un ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-130.

[00158] La Modalidad 133 es una composición que comprende el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-130, o la composición de cualquiera de las Modalidades 131-132, que comprende adicionalmente una nucleasa o un ARNm que codifica la nucleasa.

[00159] La Modalidad 134 es la composición de la Modalidad 133, donde la nucleasa es una proteína Cas.

[00160] La Modalidad 135 es la composición de la Modalidad 134, donde la proteína Cas es una Nme Cas9.

[00161] La Modalidad 136 es la composición de la Modalidad 135, donde la Nme Cas9 es una Nme1 Cas9, una Nme2 Cas9, o una Nme3 Cas9.

[00162] La Modalidad 137 es la composición de una cualquiera de las Modalidades 133-136, donde la nucleasa tiene una actividad de escisión de doble cadena.

[00163] La Modalidad 138 es la composición de cualquiera de las Modalidades 133-137, donde la nucleasa tiene actividad nicasa.

[00164] La Modalidad 139 es la composición de una cualquiera de las Modalidades 133-138, donde la nucleasa tiene un dominio de unión a ADN dCas.

[00165] La Modalidad 140 es la composición de cualquiera de las Modalidades 133-139, donde se modifica la nucleasa.

[00166] La Modalidad 141 es la composición de la Modalidad 140, donde la nucleasa modificada comprende un dominio funcional heterólogo.

[00167] La Modalidad 142 es la composición de la Modalidad 141, donde el dominio funcional heterólogo es una desaminasa.

[00168] La Modalidad 143 es la composición de la Modalidad 142, que comprende además una UGI o un ARNm que codifica una UGI.

[00169] La Modalidad 144 es la composición de una cualquiera de las Modalidades 142-143, donde el dominio funcional heterólogo es una citidina desaminasa.

[00170] La Modalidad 145 es la composición de cualquiera de las Modalidades 140-144, donde la nucleasa modificada comprende una señal de localización nuclear (NLS).

5 [00171] La Modalidad 146 es la composición de cualquiera de las Modalidades 133-145, que comprende un ARNm que codifica la nucleasa.

[00172] La Modalidad 147 es la composición de la Modalidad 146, donde el ARNm comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 636-638.

[00173] La Modalidad 148 es una formulación farmacéutica que comprende el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-130 o la composición de cualquiera de las Modalidades 131-147 y un portador farmacéuticamente aceptable.

[00174] La Modalidad 149 es un método para modificar un ADN objetivo que comprende administrar una proteína Cas o un ácido nucleico que codifica una proteína Cas, y cualquiera o más de los siguientes a una célula:

- 15 i. el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-130;
- ii. la composición de cualquiera de las Modalidades 131-147; y
- iii. la formulación farmacéutica de la Modalidad 148.

[00175] La Modalidad 150 es el método de la Modalidad 149, donde el método tiene como resultado una inserción o eliminación en un gen.

20 [00176] La Modalidad 151 es el método de la Modalidad 149 o 150, donde el método tiene como resultado al menos una edición de base.

[00177] La Modalidad 152 es el método de cualquiera de las Modalidades 149-151, que comprende adicionalmente administrarle a la célula una plantilla, donde al menos una parte de la plantilla se incorpora en un ADN objetivo en o cerca de un sitio de rotura bicatenaria inducida por la proteína

25 Cas.

[00178] La Modalidad 153 es el ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-130, la composición de las Modalidades 131-147, o la formulación farmacéutica de la Modalidad 148 para el uso en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno.

[00179] La Modalidad 154 es el uso del ARNg de cualquiera de las Modalidades 1-130, la

30 composición de las Modalidades 131-147, o la formulación farmacéutica de la Modalidad 148 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno.

LEYENDAS DE LAS FIGURAS

[00180] La FIG. 1 muestra los resultados medios de la edición con desviación estándar en células HEK-Blue™ utilizando ARNg truncados.

35 [00181] La FIG. 2 muestra el porcentaje medio de los resultados de edición para ARN de guía doble (ARNgd) dirigido a VEGFA en células HEK-Nme2.

[00182] La FIG. 3 muestra el porcentaje medio de resultados de la edición de ARNgu modificado químicamente en células HEK-Nme2 que se dirigen al gen VEGFA en el sitio T47.

[00183] La FIG. 4 muestra el porcentaje medio de resultados de la edición de ARNgu modificado

40 en células HEK-293 que se dirigen al gen VEGFA en el sitio T47.

[00184] La FIG. 5 muestra el porcentaje medio de edición en el locus de TTR en PMH con un aumento en las dosis de ARNm de Nme2Cas9 y ARNgu químicamente modificado.

[00185] La FIG. 6 muestra el porcentaje medio de edición en el locus de PCSK9 en PMH con ARNgu modificados.

45 [00186] La FIG. 7 muestra el porcentaje medio de edición en PMH de varios ARNm de Nme2Cas9

con un ARNgu modificado.

[00187] La FIG. 8A muestra el porcentaje medio de edición en el locus de TTR en PMH con diferentes relaciones de ARNgu y ARNm de Nme2Cas9.

[00188] La FIG. 8B muestra el porcentaje medio de edición en el locus de TTR en PMH con relaciones diferentes de ARNpg y ARNm de Nme2Cas9.

[00189] La FIG. 9 muestra el porcentaje medio de edición en el locus de TTR en PMH para ARNpg con ARNm de Nme2Cas9.

[00190] La FIG. 10A muestra la media del porcentaje de edición en el locus de VEGFA TS-25 en células HEK-Nme2 para combinaciones de ARNcr y ARNtr modificados con ARNm de Nme2Cas9.

[00191] La FIG. 10B muestra la media del porcentaje de edición en el locus de VEGFA TS-47 en células HEK-Nme2 para combinaciones de ARNcr y ARNtr modificados con ARNm de Nme2Cas9.

[00192] La FIG. 11 muestra el porcentaje medio de edición en el locus de VEGFA TS-47 en ARNgd de células HEK-Nme2 que consisten en diferentes combinaciones de ARNcr y ARNtracr para combinaciones de ARNcr y ARNtr modificados con ARNm de Nme2Cas9.

[00193] La FIG. 12A muestra el porcentaje medio de edición en exón 1 de TTR en PMH para ARNpg con modificación con 2'-OMe en la secuencia guía.

[00194] La FIG. 12B muestra el porcentaje medio de edición en el exón 3 de TTR en PMH para ARNpg con modificación con 2'-OMe en la secuencia guía.

[00195] La FIG. 12C muestra el porcentaje medio de edición en el exón 1 de TTR en PMH para ARNpg con modificación con 2'-OMe leve en la secuencia guía.

[00196] La FIG. 12D muestra el porcentaje medio de edición en el exón 3 de TTR en PMH para ARNpg con modificación con 2'-OMe leve en la secuencia guía.

[00197] La FIG. 13 muestra el porcentaje medio de edición en el locus PCSK9 en PMH.

[00198] La FIG. 14A muestra los resultados medios de edición en el locus de VEGFA en células HEK tratadas con ARNm C (SEQ ID NO: 622).

[00199] La FIG. 14B muestra los resultados medios de edición en el locus de VEGFA en células HEK tratadas con ARNm I (SEQ ID NO: 627).

[00200] La FIG. 14C muestra los resultados medios de edición en el locus de VEGFA en células HEK tratadas con ARNm J (SEQ ID NO: 628).

[00201] La FIG. 14D muestra los resultados medios de edición en el locus de VEGFA en células PHH tratadas con ARNm C (SEQ ID NO: 622).

[00202] La FIG. 14E muestra los resultados medios de edición en el locus de VEGFA en células PHH tratadas con ARNm I (SEQ ID NO: 627).

[00203] La FIG. 14F muestra los resultados medios de edición en el locus de VEGFA en células PHH tratadas con ARNm J (SEQ ID NO: 628).

[00204] La FIG. 15 muestra el porcentaje medio de edición en el locus de TTR de ratón en células PMH tratadas con construcciones NmeCas9 diseñadas con 1 o 2 secuencias de localización nuclear.

[00205] La FIG. 16 muestra el porcentaje medio de edición en el locus de TTR en células PMH tratadas con ARNpg y diversos ARNm de Nme2Cas9.

[00206] La FIG. 17 muestra el cambio de múltiplo en la expresión de la proteína Nme2Cas9 en comparación con la expresión de la proteína SpyCas9 en células PMH, PRH, PCH y PHH.

[00207] La FIG. 18A-18F muestran un cambio en la expresión de la proteína Nme2Cas9 en comparación con la expresión de la proteína SpyCas9 en linfocitos T de 2 donantes analizadas a las 24 horas, 48 horas y 72 horas después del tratamiento.

[00208] La FIG. 19 muestra el porcentaje medio de edición en el locus de TTR en hígado de ratón

tratado con ARN_g y Nme2Cas9.

[00209] La FIG. 20A muestra el porcentaje medio de edición en el locus de TTR en hígado de ratón después del tratamiento con ARN_{pg} y Nme2Cas9.

5 [00210] La FIG. 20B muestra el porcentaje medio de TTR en suero después del tratamiento con ARN_{pg} y Nme2Cas9.

[00211] La FIG. 20C muestra el porcentaje medio del silenciamiento de TTR después del tratamiento con ARN_{pg} y Nme2Cas9.

[00212] La FIG. 20D muestra el porcentaje medio de edición en el locus de TTR de hígado de ratón después del tratamiento con ARN_{pg} y diversas Nme2Cas9.

10 [00213] La FIG. 20E muestra el silenciamiento de la proteína TTR en suero luego del tratamiento con ARN_{pg} y diversas Nme2Cas9.

[00214] La FIG. 21 muestra el porcentaje medio de edición en hígado de ratón después del tratamiento diversas construcciones de Nme2Cas9.

15 [00215] La FIG. 22 muestra el porcentaje medio de edición en hígado de ratón después del tratamiento con ARN_{pg} y diversas Nme2Cas9.

[00216] La FIG. 23 muestra el porcentaje medio de edición en hígado de ratón después del tratamiento con diversos editores de base.

20 [00217] La FIG. 24 muestra un esquema de ejemplo de ARN_g de Nme2 en una posible estructura secundaria, que incluye la región de repetición/antirrepetición y la región de horquilla que incluye las regiones de horquilla 1 y de horquilla 2 y además indica la región guía (o región objetivo) (indicada con un color gris con un contorno discontinuo), bases que no se pueden eliminar de forma única o en pares (indicadas con un color gris con contorno sólido), bases que se pueden eliminar de forma única o en pares (círculos abiertos).

25 [00218] La FIG. 25 muestra un ARN_g de ejemplo (G021536; SEQ ID NO: 490) en una posible estructura secundaria. La metilación se muestra en negrita; los enlaces de fosforotioato se indican con "***". El emparejamiento de bases de Watson-Crick se indica mediante un "—" entre los nucleótidos en partes de dúplex. El emparejamiento de bases que no es Watson-Crick se indica con un "•" entre nucleótidos en partes de dúplex.

30 [00219] La FIG. 26 muestra el porcentaje medio de edición en el locus de TTR en hepatocitos de ratón primarios.

[00220] La FIG. 27 muestra niveles de TTR en suero en ratones.

[00221] La FIG. 28 muestra el porcentaje de edición en el locus de TTR en muestras de hígado de ratón.

[00222] La FIG. 29 muestra mediciones de TTR en suero después del tratamiento en ratones.

35 [00223] La FIG. 30 muestra el porcentaje de edición en el locus TTR en muestras de hígado de ratón.

[00224] La FIG. 31 muestra el porcentaje medio de linfocitos T CD3 negativos después de la edición de TRAC con Nme1Cas9.

40 [00225] La FIG. 32 muestra el porcentaje medio de linfocitos T CD3 negativos después de la edición de TRAC con Nme3Cas9.

[00226] La FIG. 33 muestra la expresión de construcciones Nme-HiBiT en linfocitos T a las 24 horas.

[00227] La FIG. 34 muestra la población de linfocitos CD3 negativos en función de la cantidad de ARNm de NmeCas9.

45 [00228] La FIG. 35 muestra la curva dosis-respuesta para ARN_g seleccionados en PCH.

[00229] La FIG. 36 muestra la curva dosis-respuesta para series de dilución de LNP en PCH.

[00230] La FIG. 37 muestra un ARN_{gu} de ejemplo (ID de guía G032572; SEQ ID NO: 951) en una posible estructura secundaria. Los nucleótidos no modificados se muestran en negrita y la metilación se muestra en fuentes claras; los enlaces de fosforotioato se indican con "***". El emparejamiento de bases de Watson-Crick se indica mediante un "—" entre los nucleótidos en partes de dúplex. El emparejamiento de bases que no es Watson-Crick se indica con un "•" entre nucleótidos en partes de dúplex.

[00231] La FIG. 38 muestra un ARN_{gu} de ejemplo (ID de guía G031771; SEQ ID NO: 952) en una posible estructura secundaria. Los nucleótidos no modificados se muestran en negrita y la metilación se muestra en fuentes claras; los enlaces de fosforotioato se indican con "***". El emparejamiento de bases de Watson-Crick se indica mediante un "—" entre los nucleótidos en partes de dúplex. El emparejamiento de bases que no es Watson-Crick se indica con un "•" entre nucleótidos en partes de dúplex.

[00232] La FIG. 39 muestra niveles de TTR en suero en ratones.

[00233] La FIG. 40 muestra el porcentaje de edición en el locus TTR en muestras de hígado de ratón.

[00234] La FIG. 41 muestra la curva dosis-respuesta para ARN_g seleccionados en PMH.

[00235] La FIG. 42 muestra la curva dosis-respuesta para ARN_g seleccionados en PMH.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[00236] En el presente documento se proporcionan ARN_g abreviados para su uso en métodos de edición de genes. En las Tablas 1-2 se muestran ejemplos de secuencias de ARN_g modificados y evaluados.

[00237] Determinados ARN_g proporcionados en la presente son ARN guía únicos (ARN_{gu}) para el uso en métodos de edición de genes.

[00238] Determinados ARN_g proporcionados en la presente son ARN guía dobles (ARN_{gd}) para el uso en métodos de edición de genes.

[00239] La presente descripción proporciona adicionalmente ejemplos de uso de estos ARN_g para alterar el genoma de un ácido nucleico objetivo *in vivo* (por ejemplo, células cultivadas *in vitro* para el uso en terapias *ex vivo* u otros usos de células editadas genéticamente) o en una célula en un sujeto tal como un ser humano (por ejemplo, para el uso en la terapia *in vivo*).

Tabla 1. Secuencias de ejemplo para ARNg

Longitud (nt)	SEQ ID NO:	Secuencia
145	500	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGUUGUAGCUCCCUUUCUCAUUUCGGAAACGAAAUGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGA AAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCCUAAAGCUUCUGCUUUAAAGGGGCAUCGUUUA
101	1	(N) ₂₀₋₂₅ GUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGGCAUCGUU
105	2	(N) ₂₀₋₂₅ GUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGGCAUCGUUUAAU
107	3	(N) ₂₀₋₂₅ GUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGGCAUCGUUUAAU
101	4	mN*mNNNNNNNNmNNNmNNNNNNNNNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmG mUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGmAmUC*mG*mU*mU
97-102	5	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCm AmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGmAmUC*mG*mU*mU
77	6	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCm AmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGmAmUC*mG*mU*mU
101	7	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
97-102	8	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmC AAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
77	9	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmC AAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
105	10	(N) ₂₀₋₂₅ GUUGUAGCUCCCUUCGAAAGACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGGCAUCGUU
105	11	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmC

Longitud (nt)	SEQ ID NO:	Secuencia
		UAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101	12	mN*mNNNNNNNNmNNNmNNNNNNNNNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGcmAmUC*mG*mU*mU
97-102	13	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmA mAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGcmAmUC*mG*mU*mU
77	14	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmA mAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGcmAmUC*mG*mU*mU
101	15	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
97-102	16	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCA AmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
77	17	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCA AmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
105	18	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmC UAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101	19	mN*mNNNNNNNNmNNNmNNNNNNNNNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGcmAmUC*mG*mU*mU
97-102	21	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCm AmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGcmAmUC*mG*mU*mU
77	22	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCm

Longitud (nt)	SEQ ID NO:	Secuencia
		AmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
101	23	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
97-102	24	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmC AAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
77	25	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmC AAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
105	26	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmC UAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101	27	mN*mNNNNNNNNNmNNNmNNNNNNNNNNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmG mUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
97-102	28	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGm AmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
77	29	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmA mAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
101	30	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
97-102	31	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCA AmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
77	32	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCA AmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU

Longitud (nt)	SEQ ID NO:	Secuencia
97-102	33	(N) ₂₀₋ 25mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCm AmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
105	34	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmC UAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101-106	35	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGU GCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
81	36	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGU GCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101-106	37	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG UGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
81	38	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG UGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101-106	39	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGU GCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
81	40	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGU GCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101-106	41	(N) ₂₀₋₂₅ mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG UGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU

Longitud (nt)	SEQ ID NO:	Secuencia
81	42	mGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG UGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU

Tabla 2. ARNgu de ejemplo

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
G017564	101	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU	301	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCC mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCm UmUmCmUGGCAUCGUUUAmU*mU
G017565	102	GGCCUGGCUGAUGAGGCCGCACAUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC UGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUUUUAUC	302	mG*mG*mC*CUGGCUGAUGAGGCCGCACAUGUUGUAGCUCCCU*m G*mA*mA*mA*CCGUUGCUACAAUAAGGCCGUmC*mU*mG*mA*mA*m A*mA*mGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCmU*mU*mC*mUGGCAUCGU UU*mA*mU*mC
G017566	103	GGCCUGGCUGAUGAGGCCGCACAUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUUAUC	303	mG*mG*mC*CUGGCUGAUGAGGCCGCACAUGUUGUAGCUCCCU*m G*mA*mA*mA*CCGUUGCUACAAUAAGGCCGUmC*mG*mA*mA*mA*m GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCmU*mU*mC*mUGGCAUCGUUU*mA* mU*mC
G020031	104	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU	304	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACC CGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUG CCUUCUGGCAUCGUUUAAU
G020032	105	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC	305	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCU*GG AAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGC UCUGCCUUCUGGCAUCGUUU*mA*mU*mU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		UGGCAUCGUUUAAU		
G020033	106	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU	306	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGG AAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGC UCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAA*mU*mU
G020034	107	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU	307	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAA ACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUC UGCCUUCUGGCAUCGUUUAAmU*mU
G020035	108	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU	308	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCdGUUGdTdAdGdCUCCcdT dGdGdAdAdAdCdCdCGdTUdGdCUdAdCAAUAAGdGdCdCdGdUdCdGd AdAdAdGdAdUGdUGCdCGdCdAdAdCdGCUCUdGdCCdUdUdCdUGdG CdAdUCGdUdUUAAmU*mU
G020036	109	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU	309	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAA ACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUC UGCCUUCUGGCAUCGUUUAAU*mU
G020037	110	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU	310	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAA ACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGmC mUmCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAAmU*mU
G020038	111	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC	311	mGmUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAA CCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARN _{gu}	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARN _{gu}
		GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU		GCCUUCUGGCAUCGUUUAmU*mU
G020039	112	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU	312	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCC mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCm UmUmCmUGGCAUCGUUUAmU*mU
G020040	113	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU	313	mG*mUG*UGU*CCCmUCUmCCC*CACCCGUCCmGUUGmUmAmGmC U*C*C*C*mUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG *mGmCC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACG*C*U*C *U*mGmCCmUmUmCmUG*GCAU*C*G*UUU*AmU*mU
G020041	114	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU	314	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCC mUmUmCmUGGCAUCGUUU*AmU*mU
G020042	115	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAAU	315	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGmCmUmCUmG mCCmUmUmCmUGGCAUCGUUU*AmU*mU
G020043	116	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAA AGGCAUCGUUUAAU	316	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCC mGmAmAmAGGCAUCGUUU*AmU*mU
G020044	117	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG	317	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		CUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUU		CCCMUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCC mUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020045	118	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUUAUU	318	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUUAUU
G020046	119	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUUAUU	319	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGA AACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUC UGCCUUCUGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
G020047	120	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUUAUU	320	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGA AACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUC UGCCUUCUGGCAUCGUUUUA*mU*mU
G020048	121	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUUAUU	321	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAA CCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCU GCCUUCUGGCAUCGUUUAmU*mU
G020049	122	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUUAUU	322	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCdGUUGdTdAdGdCUCCcdT dGdAdAdAdCdCdGdTudGdCUdAdCAAUAAGdGdCdCdGdUdCdGdAdAd AdGdAdUGdUGCdCdAdAdCdGCUCUdGdCCdUdUdCdUGdGCdAd UCGdUdUUAmU*mU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
G020050	123	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	323	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAA CCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCU GCCUUCUGGCAUCGUUUAAU*mU
G020051	124	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	324	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAA CCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGmCmU mCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAAmU*mU
G020052	125	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	325	mGmUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAAC CGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUG CCUUCUGGCAUCGUUUAAmUmU
G020053	126	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGG CAUCGUUUAAU	326	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAA CCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCU GCCGAAAGGCAUCGUUUAAmU*mU
G020054	127	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	327	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAA CCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCU GCCUUCUGGCAUCGmU*mU
G020055	128	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG	328	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUm

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		CAUCGUUUAAU		CmUGGCAUCGUUUAAmU*mU
G020056	129	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	329	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAmUAAGmGmCCmG mUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmACGCUCUmGmCCmU mUmCmUmGmGCAUCGmUmUUAmU*mU
G020057	130	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	330	mG*mUmGmUmGmUCCCmUmCmUmCCCCmAmCCCGUCCmGUUG mUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAG mGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUm GmCCmUmUmCmUGGCAUCGUUUAAmU*mU
G020058	131	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	331	mG*mUmGmUmGmUCCCmUmCmUmCCCCmAmCCCGUCCmGUUG mUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAmUAA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmACGCUC UmGmCCmUmUmCmUmGmGCAUCGmUmUUAmU*mU
G020059	132	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGG CAUCGUUUAAU	332	mG*mUmGmUmGmUCCCmUmCmUmCCCCmAmCCCGUCCmGUUG mUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAmUAA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmACGCUC UmGmCCmGmAmAmAmGmGCAUCGmUmUUAmU*mU
G020060	133	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	333	mG*mUmGmUmGmUCCCmUmCmUmCCCCmAmCCCGUCCmGUUG mUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAmUAA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmACGCUC UmGmCCmUmUmCmUmGmGCAUCGmU*mU
G020061	134	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC	334	mG*mUG*UGU*CCCUCUCCC*CACCCGUCCGUUGUAGCU*C*C*C*U GAAACCGUUGCUACA*A*U*A*AG*GCC*GUCGAAAGAUGUGCCGCAA

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU		CG*C*U*C*U*GCCUUCUG*GCAU*C*G*UUU*AmU*mU
G020062	135	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	335	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUG*UAGCU*C*C*C*UGA AACCGUUGCUACA*A*UA*AG*GCC*GUCGAAAGAUG*UGCCGCAAC G*C*U*C*U*GCC*UUCUGGCAU*C*G*UUU*AmU*mU
G020063	136	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	336	mG*mU*GUGUCCCUCUCC*CCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAA ACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCU GCCUUCUGGCAUCGUUUAmU*mU
G020064	137	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	337	mG*mU*GUGUCCCUCUCC*CCACCCGUCCGUUG*UAGCU*C*C*C*U GAAACCGUUGCUACA*A*UA*AG*GCC*GUCGAAAGAUG*UGCCGCAA CG*C*U*C*U*GCC*UUCUGGCAU*C*G*UUU*AmU*mU
G020065	138	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	338	mG*mUGUGUCCCUCUCCC*CACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAA CCGUUGCUACAAU*AAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCU GCCUUCUGGCAUCGUUU*AmU*mU
G020066	139	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGG CAUCGUUUAAU	339	mG*mUGUGUCCCUCUCCC*CACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAA CCGUUGCUACAAU*AAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCU GCCGAAAGGCAUCGUUU*AmU*mU
G020067	140	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG	340	mG*mUGUGUCCCUCUCCC*CACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAA

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARN _{gu}	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARN _{gu}
		CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		CCGUUGCUACAAU*AAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCU GCCUUCUGGCAUCGmU*mU
G020068	141	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	341	mG*mUG*UGU*CCcmUCUmCCC*CACCCGUCCmGUUGmUmAmGmC U*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGm CC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACG*C*U*C*U*m GmCCmUmUmCmUG*GCAU*C*G*UUU*AmU*mU
G020069	142	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	342	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU *C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*mUA*AG*mGm CC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAmACG*C*U*C*U* mGmCCmUmUmCmUmGmGCAU*C*G*mUmUU*AmU*mU
G020070	143	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	343	mG*mUmGmUmGmUCCcmUmCmUmCCCCmAmCCCGUCCmGUUG* mUmAmGmCU*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A* mUA*AG*mGmCC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAm ACG*C*U*C*U*mGmCCmUmUmCmUmGmGCAU*C*G*mUmUU*AmU* mU
G020071	144	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAAU	344	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmU mCmUGGCAUCGUUU*AmU*mU
G020072	145	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGG	345	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmGmA

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARN _{gu}	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARN _{gu}
		CAUCGUUUUAUU		mAmAGGCAUCGUUU*AmU*mU
G020073	146	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	346	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmU mCmUGGCAUCGmU*mU
G020361	147	GGCCUGGCUGAUGAGGCCGCACAUGUUGUAG CUCCCUCGAAAGCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUUAUU	347	mG*mGC*CUGGCUmGAUmGAGGCCGCACAUmGUUGmUmAmGmCU CCCUmCmGmAmAmAmGCCGUUmGmCUAmCAAU*A*AGmGmCCmG mUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUm UmCmUGGCAUCGUUU*AmU*mU
G020711	148	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	348	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU
G020712	149	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	349	GUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCC mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC mGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCm UGGCAUCGUU
G020713	150	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	350	G*UGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGU*U
G020714	151	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC	351	mGmUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAAC CGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUG

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		CCUUCUGGCAUCGmUmU
G020715	152	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	352	mGmUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUm CmUGGCAUCGmUmU
G020716	153	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	353	mGmUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUm CmUGGCAUCGmU*mU
G020717	154	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	354	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUm CmUGGCAUCGmUmU
G020718	155	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	355	mG*mU*mG*UGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGm CUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmU mUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020719	156	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	356	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmU mCmUGGCAUC*mG*mU*mU
G020720	157	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG	357	mG*mU*mG*UGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGm

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		CUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmU mUmCmUGGCAUC*mG*mU*mU
G020721	158	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	358	mG*mU*GUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmU mCmUGGCAUCG*mU*mU
G020722	159	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	359	mG*UGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUm CmUGGCAUCGU*mU
G020723	160	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGG CAUCGUU	360	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmGmA mAmAGGCAUCGmU*mU
G020724	161	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	361	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGmCmUmCUmGmCCm UmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020725	162	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	362	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGC*U*C*UmGmCCmUm UmCmUGGCAUCGmU*mU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
G020726	163	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	363	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUm CmUGGCAUCGmU*mU
G020727	164	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	364	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAA CCGUUGCUACAAU*AAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCU GCCUUCUGGCAUCGmU*mU
G020728	165	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	365	mG*mU*GUGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmC UCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmG mUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUm UmCmUGGCAUCGmU*mU
G020729	166	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	366	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU *C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*UA*AG*mGmCC *mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*C*U*C*U*mGm CC*mUmUmCmUGGCAU*C*G*mU*mU
G020730	167	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	367	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU *C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmC C*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*C*U*C*U*mG mCC*mUmUmCmUGGCAU*C*G*mU*mU
G020731	168	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG	368	mG*mU*GUGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmC U*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*UA*AG*mGmC C*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*C*U*C*U*mG

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		CAUCGUU		mCC*mUmUmCmUGGCAU*C*G*mU*mU
G020732	169	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	369	mG*mU*GUGUCCcmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmC U*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGm CC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*C*U*C*U*m GmCC*mUmUmCmUGGCAU*C*G*mU*mU
G020733	170	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	370	mG*mUG*UGU*CCCmUCUmCCC*CACCCGUCCmGUUGmUmAmGmC UCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmG mUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUm UmCmUGGCAUCGmU*mU
G020734	171	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	371	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU* C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmCC *mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACG*C*U*C*U*mGm CCmUmUmCmUG*GCAU*C*G*mU*mU
G020735	172	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	372	mG*mUG*UGU*CCCmUCUmCCC*CACCCGUCCmGUUGmUmAmGmC U*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGm CC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACG*C*U*C*U*m GmCCmUmUmCmUG*GCAU*C*G*mU*mU
G020736	173	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUU	373	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmU mCmUGGCAUCGmU*mUmU
G020737	174	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC	374	mG*mUGUGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARN _{gu}	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARN _{gu}
		GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUA		UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmU mCmUGGCAUCGmU*mUmU*mA
G020738	175	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAU	375	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmU mCmUGGCAUCGmU*mUmU*mA*mU
G020739	176	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUUGGAAACCACGUUGCUACAAUAAGGC CGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	376	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmUmGmGmAmAmAmCmCmAmCGUUmGmCUAmCAAU*AAG mGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUm GmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020740	177	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCGAAACGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGA AAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCA UCGUU	377	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmGmAmAmAmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCm GmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmU GGCAUCGmU*mU
G020741	178	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCGAAACUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUC GUU	378	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCmGmAmAmAmCUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGm AmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGC AUCGmU*mU
G020742	179	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	379	mG*mUGUGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmC U*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGm CC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*mCmUmCU *mGmCC*mUmUmCmUGGCAU*C*G*mU*mU
G020743	180	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG	380	mG*mU*mG*UGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmG

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARN _{gu}	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARN _{gu}
		CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		mCU*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*m GmCC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*mCmU mCU*mGmCC*mUmUmCmUGGCAU*C*G*mU*mU
G020744	181	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGG CAUCGUU	381	mG*mUGUGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmC U*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGm CC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*mCmUmCU *mGmCC*mGmAmAmAGGCAU*C*G*mU*mU
G020745	182	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGG CAUCGUU	382	mG*mU*mG*UGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmG mCU*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*m GmCC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*mCmU mCU*mGmCC*mGmAmAmAGGCAU*C*G*mU*mU
G020746	183	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	383	mG*mUmGmUmGUCmCmCmUmCUmCCCCAmCCCGmUCCmGUUG mUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020747	184	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	384	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGmUUmGmCUmAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmU mUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020748	185	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	385	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCmCmG mUmCmGmAmAmAmGmAmUGmUGCmCGmCAACGCUCUmGmCCm UmUmCmUGGCAUCGmU*mU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARN _{gu}	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARN _{gu}
G020749	186	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	386	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUCGmU*mU
G020750	187	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	387	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGmUUmGmCUmAmCAAU*AAGmGmCmC mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGmUGCmCGmCmAmAmCmGCUCU mGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUCGmU*mU
G020751	188	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC UGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	388	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCC mUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020752	189	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUCUG GGCAUCGUU	389	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCCmUm UmCmUmGGGCAUCGmU*mU
G020753	190	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC UGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUC UGGGCAUCGUU	390	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCC mUmUmCmUmGGGCAUCGmU*mU
G020754	191	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC UGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU	391	mG*mU*mG*UGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGm CUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGm

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		GGCAUCGUU		CCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020755	192	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUCUG GGCAUCGUU	392	mG*mU*mG*UGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGm CUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCcm UmUmCmUmGGGCAUCGmU*mU
G020756	193	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC UGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUC UGGGCAUCGUU	393	mG*mU*mG*UGUCCcmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGm CUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCm GmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGm CCCmUmUmCmUmGGGCAUCGmU*mU
G020848	194	UGAGGACCGCCCUGGGCCUGGGAGGUUGUAG CUCCCUCGAAAGCCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUUU	394	mU*mGA*GGACCGmCCCmUGGGCCUGGGAGmGUUGmUmAmGmC UCCUmCmGmAmAmAmGCCGUUmGmCUAmCAAU*A*AGmGmCCm GmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmU mUmCmUGGCAUCGUUU*AmU*mU
G021237	195	GGGGCCAGCUUCAGACACAAUACGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	395	mG*mGGGCCAGCmUUCmAGACACAAUACmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021238	196	UUUUCACAGCCAACGACUCUGGCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	396	mU*mUUUCACAGmCCAmACGACUCUGGCCmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021239	197	CAUCAGAGGACAUUUGGAUUCUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC	397	mC*mAUCAGAGGmACAmUUUGGAUUCUCCmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021240	198	CAUGGAACGGGGAAAUGCCAAGUGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	398	mC*mAUGGAACGmGGGmAAAUGCCAAGUGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021241	199	AAAUUCGUACUGGAAGACACUUGGCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	399	mA*mAAUUCGUACmUGGmAAGACACUUGGcmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021242	200	AAUCGUACUGGAAGACACUUGGCAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	400	mA*mAUUCGUACUmGGAmAGACACUUGGCAmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021243	201	UCUGGCCAUCGCCACUACACCAUCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	401	mU*mCUGGCCAUmCGCmCACUACACCAUCmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021244	202	CUGGCCAUCGCCACUACACCAUCGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	402	mC*mUGGCCAUcmGCCmACUACACCAUCGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021245	203	ACCAUCGCAGCCCUGCUCAGCCCAGUUGUAG	403	mA*mCCAUCGCAmGCCmCUGCUCAGCCCAmGUUGmUmAmGmCUC

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021246	204	UGGACUGGUUUUGUGUCUGAAGCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	404	mU*mGGACUGGUUmAUUmUGUGUCUGAAGCmGUUGmUmAmGmCU CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021247	205	CUGCCUCGGACAGCAUCCAGGACUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	405	mC*mUGCCUCGGmACAmGCAUCCAGGACUmGUUGmUmAmGmCU CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021248	206	CUACAAGCUUACCCAGAGGCAAAGGUUGUAGC UCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	406	mC*mUACAAGCUmUACmCCAGAGGCAAAGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021249	207	CAGAAUUGAGAGACUCAGCCCAGGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	407	mC*mAGAAUUGAmGAGmACUCAGCCCAGGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021250	208	GAUCCACAAGCUCCUGACAGGAUGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	408	mG*mAUCCACAAmGCUmCCUGACAGGAUGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
G021251	209	AUCCACAAGCUCCUGACAGGAUGGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	409	mA*mUCCACAAGmCUCmCUGACAGGAUGGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021252	210	GGACUGGUUUUGUGUCUGAAGCUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	410	mG*mGACUGGUAmUUUmGUGUCUGAAGCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021253	211	UGCUGAUCCUGCCAAGCUGACUCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	411	mU*mGCUGAUCCmCUGmCCAAGCUGACUCmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021254	212	CAGCAACCCCCAGAAUUGAGAGACGUUGUAGC UCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	412	mC*mAGCAACCCmCCAmGAAUUGAGAGACmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021255	213	GCUUCUCCUGGUGAAGGGGCUUUUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	413	mG*mCUUCUCCUmGGUmGAAGGGGCUUUUmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021256	214	CCAAGUGUCUCCAGUACGAUUUGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG	414	mC*mCAAGUGUCmUUCmCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		CAUCGUU		mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021257	215	CGAUGGCCAGAGUCGUUGGCUGUGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	415	mC*mGAUGGCCAmGAGmUCGUUGGCUGUGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021258	216	GUUUAAUAAGAAUGCUUCACGGCAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	416	mG*mUUUAAUAAmGAAmUGCUUCACGGCmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021259	217	UUGGAGUCAGCUUGGCAGGGAUCAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	417	mU*mUGGAGUCAmGCUmUGGCAGGGAUCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021260	218	GGAAGGAGGGGUUAUAAAAGCCCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	418	mG*mGAAGGAGGmGGGmUAUAAAAGCCCCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021261	219	ACAGGAUGGCUUCCCUUCGACUCUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	419	mA*mCAGGAUGGmCUUmCCCUUCGACUCUmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021262	220	CUGGACUGGUUAUUUGUGUCUGAAGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC	420	mC*mUGGACUGGmUAUmUUGUGUCUGAAGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021263	221	CUCUGAUGGUCAAAGUCCUGGAUGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	421	mC*mUCUGAUGGmUCAmAAGUCCUGGAUGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021264	222	GAAGGAGUGUACAGAGUAGAACUGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	422	mG*mAAGGAGUGmUACmAGAGUAGAACUGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021265	223	AGGUGGUUUUCACAGCCAACGACUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	423	mA*mGGUGGUUUUmUCAmCAGCCAACGACUmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021266	224	GCCAACGACUCUGGCCAUCGCCACGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	424	mG*mCCAACGACmUCUmGGCCAUCGCCACmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021267	225	UACAGCACCACGGCUGUCGUCAGCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	425	mU*mACAGCACCmACGmGCUGUCGUCAGCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021268	226	ACAGCACCACGGCUGUCGUCAGCAGUUGUAG	426	mA*mCAGCACCmCGGmCUGUCGUCAGCmGUUGmUmAmGmCU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021269	227	UAAACCGUGUUAGCAGCUCAGGAAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	427	mU*mAAACCGUGmUUAmGCAGCUCAGGAAmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021270	228	GAAGAUGCCGUGAAGCAUUCUUAUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	428	mG*mAAGAUGCCmGUGmAAGCAUUCUUAUmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021271	229	GAUGCCGUGAAGCAUUCUUAUUAAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	429	mG*mAUGCCGUGmAAGmCAUUCUUAUUAUmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021272	230	UCCUGGUGAAGGGGCUUUUAUACCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	430	mU*mCCUGGUGAmAGGmGGCUUUUAUACCMGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021273	231	UUCUCCUGGUGAAGGGGCUUUUAUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	431	mU*mUCUCCUGGmUGAmAGGGGCUUUUAUmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARN _{gu}	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARN _{gu}
G021274	232	CUUCUCCUGGUGAAGGGGCUUUUAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	432	mC*mUUCUCCUGmGUGmAAGGGGCUUUUAmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021275	233	UCUACAGCAGGGCUGCCUCGGACAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	433	mU*mCUACAGCmGGGmCUGCCUCGGACmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021276	234	UUUGGUGUCCAGUUCUACUCUGUAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	434	mU*mUUGGUGUCmCAGmUUCUACUCUGUAmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021277	235	CAGGGCUGCGAUGGUGUAGUGGCGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	435	mC*mAGGGCUGCmGAUmGGUGUAGUGGCGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021278	236	GAUGCUACUGCUUUGGCAAGAUCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	436	mG*mAUGCUACUmGCUmUUGGCAAGAUCcmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021279	237	CUGACAGGAUGGCUUCCCUUCGACGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG	437	mC*mUGACAGGAmUGGmCUUCCCUUCGACmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		CAUCGUU		mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021280	238	GCGGAGUCUGGAGAGCUGCACGGGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	438	mG*mCGGAGUCUmGGAmGAGCUGCACGGGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021281	239	GCCACUACACCAUCGCAGCCCUGCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	439	mG*mCCACUACAmCCAmUCGCAGCCCUGCmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021282	240	CCUACAGCACCAACGGCUGUCGUCAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	440	mC*mCUACAGCAmCCAmCGGCUGUCGUCAmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021283	241	CUACAGCACCAACGGCUGUCGUCAGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	441	mC*mUACAGCACmCACmGGCUGUCGUCAGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021284	242	CCCCUCCUCCAACCCAGGCUGCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	442	mC*mCCCCUCCUmUCCmAACCCAGGCUGCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021285	243	AAGGGGCUUUUAUACCCCUCCUUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC	443	mA*mAGGGGCUUmUUAmUACCCCUCCUUmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021286	244	GAGCUUGUGGAUCUGUGUGACGGCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	444	mG*mAGCUUGUGmGAUmCUGUGUGACGGCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021287	245	ACCGCGGGGCCAGCUUCAGACACAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	445	mA*mCCGCGGGGmCCAmGCUUCAGACACAmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021288	246	AUCGCUCACAGGAUCACUCACCGCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	446	mA*mUCGCUCACmAGGmAUCACUCACCGCmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021289	247	UUUUACAGCCACGUCUACAGCAGGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	447	mU*mUUUACAGCmCACmGUCUACAGCAGGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021290	248	UCCCAUGGUGGGCUUUCUACAAGCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	448	mU*mCCCAUGGUmGGGmCUUUCUACAAGCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021291	249	GUGGUGAGCCCGUGCAGCUCUCCAGUUGUAG	449	mG*mUGGUGAGCmCCGmUGCAGCUCUCCAmGUUGmUmAmGmCU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021292	250	CUCAUCUGUGGUGAGCCCGUGCAGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	450	mC*mUCAUCUGUmGGUmGAGCCCGUGCAGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021293	251	UUCUACAAACUUCUCAUCUGUGGUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	451	mU*mUCUACAAAmCUUmCUCAUCUGUGGUmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021294	252	CUUCUACAAACUUCUCAUCUGUGGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	452	mC*mUUCUACAAmACUmUCUCAUCUGUGGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021295	253	AUCCGCGAAUUCAUGGAACGGGGAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	453	mA*mUCCGCGAAmUUCmAUGGAACGGGGAmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021296	254	CCAAACAACUUGGUGUGUCCACUUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	454	mC*mCAAACAACmUUGmGUGUGUCCACUUmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARN _{gu}	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARN _{gu}
G021297	255	UCUCAAUUCUGGGGGUUGCUGACGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	455	mU*mCUCAAUUCmUGGmGGGUUGCUGACGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021298	256	GCUACUGCUUUGGCAAGAUCUGGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	456	mG*mCUACUGCUmUUGmGCAAGAUCUGGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021299	257	UUCUUUCUUUAAAAAGUUUGAUCGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	457	mU*mUCUUUCUUmUAAmAAAGUUUGAUCGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021300	258	CCAUGACCUCCTCAAGAUGGAAAGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	458	mC*mCAUGACCUmCCcmCAAGAUGGAAAGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021301	259	GCAAGUUGCCAGGAGCACCCAUGAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	459	mG*mCAAGUUGCmCAGmGAGCACCCAUGAmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021302	260	AGCAAGUUGCCAGGAGCACCCAUGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG	460	mA*mGCAAGUUGmCCAmGGAGCACCCAUGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARN _{gu}	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARN _{gu}
		CAUCGUU		mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021303	261	UCAAGCAAGUUGCCAGGAGCACCCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	461	mU*mCAAGCAAGmUUGmCCAGGAGCACCCmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021304	262	UCUUCCUCAAGCAAGUUGCCAGGAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	462	mU*mCUUCCUCAmAGCmAAGUUGCCAGGAmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021305	263	AUCUUCCUCAAGCAAGUUGCCAGGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	463	mA*mUCUUCCUCmAAGmCAAGUUGCCAGGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021306	264	UGGUCCACUCUGCUUUCUGACCUAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	464	mU*mGGUCCACUmCUGmCUUUCUGACCUAmGUUGmUmAmGmCU CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021307	265	UGAACGGUUGGUCCACUCUGCUUUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	465	mU*mGAACGGUUmGGUmCCACUCUGCUUUmGUUGmUmAmGmCU CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021308	266	CAGAUUGUGUGCUUUUAAUAGCUAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC	466	mC*mAGAUUGUGmUGCmUUUUAAUAGCUAmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021309	267	UGGGAAAACACUACUGUGCAUCUAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	467	mU*mGGGAAAACmACUmACUGUGCAUCUAmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021310	268	AGGAAGAUAGGUCAGAAAGCAGAGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	468	mA*mGGAAGAUAmGGUmCAGAAAGCAGAGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021311	269	CUGGGAAAACACUACUGUGCAUCUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	469	mC*mUGGGAAAACmCACmUACUGUGCAUCUmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021312	270	GGCCUACUUUUCAGUAUUGUGAUUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	470	mG*mGCCUACUUmUUCmAGUAUUGUGAUUmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021313	271	UGGCCUACUUUUCAGUAUUGUGAUUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	471	mU*mGGCCUACUmUUUmCAGUAUUGUGAUUmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021314	272	UUAGUCACUAAAGGUUAUAAAAAAGUUGUAGC	472	mU*mUAGUCACUmAAAmGGUUAUAAAAAAGUUGmUmAmGmCUC

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		UCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021315	273	UUUAGUCACUAAAGGUUAUAAAAAGUUGUAGC UCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	473	mU*mUUAGUCACmUAAmAGGUUAUAAAAmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021316	274	CCUGGGUUGGAAGGAGGGGGUUAUAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	474	mC*mCUGGGUUGmGAAmGGAGGGGGUUAUAmGUUGmUmAmGmCU CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021317	275	CUGGGUUGGAAGGAGGGGGUUAUAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	475	mC*mUGGGUUGGmAAAmGAGGGGGUUAUAmGUUGmUmAmGmCU CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021318	276	GGUAUAAAAGCCCCUUCACCAGGAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	476	mG*mGUAUAAAAmGCCmCCUUCACCAGGAmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021319	277	UUUGCUUGUAAAACAUUGAACGGUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	477	mU*mUUUGCUUGUmAAAmACAUUGAACGGUmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
G021320	278	CUUCACCAGGAGAAGCCGUCACACGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	478	mC*mUUCACCAGmGAGmAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021321	279	GAGAAGCCGUCACACAGAUCCACAGUUGUAGC UCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	479	mG*mAGAAGCCGmUCAmCACAGAUCCACAmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021322	280	UGCCCAGGGUGCUGGAGAAUCCAAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	480	mU*mGCCCAGGGmUGCmUGGAGAAUCCAAmGUUGmUmAmGmCU CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021323	281	GACGUGGCUGUAAAAGUGUUCAAAGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	481	mG*mACGUGGCUmGUAmAAAGUGUUCAAAmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021324	282	CAAAAAGACCUCUGAGGGAUCCUGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	482	mC*mAAAAAGACmCUCmUGAGGGAUCCUGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021325	283	AAAAAGACCUCUGAGGGAUCCUGGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG	483	mA*mAAAAGACCmUCUmGAGGGAUCCUGGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		CAUCGUU		UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021326	284	CUCUGGACUUGUGUGCCCUCAGGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	484	mC*mUCUGGACUmUGUmGUGCCCUCAGGmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021327	285	UCCUUCCAACCCAGGCUGCUGAUCGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	485	mU*mCCUUCCAAmCCCmAGGCUGCUGAUCmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021328	286	CCCCUCCUCCAACCCAGGCUGCUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	486	mC*mCCCUCCUUmCCAmACCCAGGCUGCUmGUUGmUmAmGmCU CCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCC mUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021329	287	AGCAACCCCCAGAAUUGAGAGACUGUUGUAGC UCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	487	mA*mGCAACCCcmCAGmAAUUGAGAGACUmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021330	288	ACCAGGAUCUUGCCAAAGCAGUAGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	488	mA*mCCAGGAUCmUUGmCCAAAGCAGUAGmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021331	289	UUGCCAAAGCAGUAGCAUCCCAUUGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC	489	mU*mUGCCAAAGmCAGmUAGCAUCCCAUUmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU

ID de guía	SEQ ID NO	Secuencia sin modificar de ARNgu	SEQ ID NO	Secuencia modificada de ARNgu
		GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU		mCmGmAmAmAmGmAmUGUGmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCm UmUmCmUGmGmAmUC*mG*mU*mU
G021536	290	CCAAGUGUCUCCAGUACGAUUUGGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	490	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGm UmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAG mGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUC UmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G021845	291	CUUCACCAGGAGAAGCCGUCACACGUUGUAG CUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUC GAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUU	491	mC*mU*mU*mCmACcmAmGGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGm UmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAG mGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUC UmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G020927	292	AUCACGAUGCCUUUAUAGGGCACCGUUUUAG AGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCUUUU	492	mA*mU*mC*UGCCUUUAUAGGGCACCGUUUUAGAmGmCmUmAmG mAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmA mCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
G020928	293	AGUGAUUACACGAUGCCUUUAUAGGUUUUAGA GCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUC CGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCG GUGCUUUU	493	mA*mG*mU*CACGAUGCCUUUAUAGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmA mAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmC mUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUm CmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
G020929	294	GGUGCAAGGAAUGAGAACCGUUUUAGAGCUA GAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUU AUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUUUU	494	mG*mG*mU*UGCAAGGAAUGAGAACCGUUUUAGAmGmCmUmAmG mAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmA mCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGm UmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

Tabla 2 (continuación)

G029377	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	931	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029378	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	932	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCmAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCm CGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029379	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	933	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAmAUAAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmC GmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029380	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	934	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCmAUA*AAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCm CGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029381	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	935	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAdTAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029382	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	936	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCAAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU

G029383	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	937	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCAAmCGCUCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029384	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	938	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029385	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	939	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCAAmCGmCmUmCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029386	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	940	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCAAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029387	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	941	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029388	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	942	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUmCmG*mU*mU

G029389	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	943	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAgGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGcmAmUmCmG*mU*mU
G029390	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	944	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAgGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmUmUmCmUGGcmAmUmCmG*mU*mU
G029391	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	945	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAgGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmUmUmCmUGGCAUmCmG*mU*mU
G029392	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	946	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAgGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCAAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUmCmG*mU*mU
G032572	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCC GUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUU CUGGCAUCGUU	951	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCG mCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G031771	295	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGGUUGUA GCUCCCUUCGAAAGACCGUUGCUACAAUAA GGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCU GCCUUCUGGCAUCGUU	952	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUm CmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAm UGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU

[00240] N representa un nucleótido que tiene cualquier base, por ejemplo, A, C, G o U. (mN*)₃ representa tres nucleótidos consecutivos que tienen, cada uno, cualquier base, un 2'-OMe y un enlace de PS 3' al siguiente nucleótido, respectivamente. (N)₂₀₋₂₅ representa 20-25, es decir, 20, 21, 22, 23, 24, o 25 N consecutivas. A, C, G y U representa nucleótidos que tienen bases de adenina, citosina, guanina y uracilo, respectivamente.

[00241] Las modificaciones de nucleótidos se indican en las Tablas 1-2 de la siguiente manera: m: 2'-OMe; *: enlace de PS; f: 2'-flúor; (inv): abásico invertido; moe: 2'-moe; e: ENA; d: desoxirribonucleico (también cabe destacar que T es siempre un desoxirribonucleico); x: UNA. En las secuencias modificadas de ARNgu, en determinadas modalidades, cada A, C, G, U y N es independientemente un azúcar ribosa (2'-OH). En determinadas modalidades, cada A, C, G, U y N es un azúcar ribosa (2'-OH). Así, por ejemplo, mA representa 2'-O-metil adenosina; xA representa un nucleótido UNA con una nucleobase adenina; eA representa un nucleótido ENA con una nucleobase adenina; y dA representa un desoxirribonucleótido de adenosina.

[00242] Las designaciones de ARNgu a veces se proporcionan con uno o más ceros iniciales inmediatamente después de la G. Esto no afecta al significado de la designación. Así, por ejemplo, G000282, G0282, G00282 y G282 se refieren al mismo ARNgu.

Tabla 3. ARNgu de NmeCas9 de ejemplo (SEQ ID NO: 500)

1-24								25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN								G	U	U	G	U	A	G	C	U	C	C	C	U	U	U	C	U	C	A	U	U	U	C	G
								Tallo inferior												Tallo superior											
Región guía								Región de repetición/antirrepetición																							
49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77			
G	A	A	A	C	G	A	A	A	U	G	A	G	A	A	C	C	G	U	U	G	C	U	A	C	A	A	U	A			
Bucle				Tallo superior														Tallo inferior													
Región de repetición/antirrepetición																															
78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	
A	G	G	C	C	G	U	C	U	G	A	A	A	A	G	A	U	G	U	G	C	C	G	C	A	A	C	G	C	U	C	
Tallo								Bucle				Tallo (96: no emparejado)											Tallo inferior					Protuberancia			

Horquilla 1																	Horquilla 2							
-------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------------	--	--	--	--	--	--	--

109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134
U	G	C	C	C	C	U	U	A	A	A	G	C	U	U	C	U	G	C	U	U	U	A	A	G	G
Tallo superior													Bucle				Tallo superior								
Horquilla 2																									

135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145
G	G	C	A	U	C	G	U	U	U	A
Tallo superior				Protuberancia	Tallo inferior					
Horquilla 2									Cola	

Definiciones

[00243] Tal como se usa en la presente, los artículos "un" y "una" se usan para hacer referencia a uno o más de uno (por ejemplo, a al menos uno) de los objetos gramaticales del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento, por ejemplo, una pluralidad de elementos

[00244] Como se utiliza en la presente memoria, el término "que incluye", y se utiliza de forma intercambiable con la frase "que incluye, de forma no taxativa", de modo que la recitación de elementos en una lista no excluye otros elementos similares que pueden sustituirse o agregarse a los elementos enumerados.

[00245] El término "o" se utiliza en la presente para hacer referencia con la expresión "y/o", y es intercambiable con esta, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, "cadena de sentido o cadena antisentido" se entiende como "cadena de sentido o cadena antisentido o cadena de sentido y cadena antisentido".

[00246] El término "alrededor de" se utiliza en el presente documento para significar dentro de los intervalos típicos de tolerancias en la técnica. Por ejemplo, "aproximadamente" puede entenderse como aproximadamente 2 desviaciones estándar de la media. En determinadas modalidades, aproximadamente significa +10 %. En determinadas modalidades, aproximadamente significa +5 %, +2 % o +1 %. Cuando "aproximadamente" o "alrededor de" están presentes antes de una serie de números o un intervalo, se entiende que pueden modificar cada uno de los números de la serie o intervalo. Como mínimo, y no como un intento de limitar la aplicación de la doctrina de equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada parámetro numérico debería al menos interpretarse a la luz del número de dígitos significativos informados y aplicando técnicas ordinarias de redondeo.

[00247] Se entiende que el término "al menos" anterior a un número o serie de números incluye el número adyacente al término "al menos", y todos los números o números enteros posteriores que lógicamente podrían incluirse, como se desprende del contexto. Por ejemplo, el número de nucleótidos en una molécula de ácido nucleico debe ser un número entero. Por ejemplo, "al menos 17 nucleótidos de una molécula de ácido nucleico de 20 nucleótidos" significa que 17, 18, 19 o 20 nucleótidos tienen la propiedad indicada. Cuando "al menos" está presente antes de una serie de números o un intervalo, se entiende que "al menos" puede modificar cada uno de los números de la serie o intervalo.

[00248] Como se utiliza en la presente memoria, "no más que" o "menos que" se entiende como el valor adyacente a la frase y los valores lógicos inferiores o enteros, según el contexto, lógicos hasta cero. Por ejemplo, una región dúplex de "no más de 2 pares de bases de nucleótidos" tiene 2, 1 o 0 pares de bases de nucleótidos. Cuando antes de una serie de números o de un intervalo está presente "no más que" o "menos que", se entiende que cada uno de los números de la serie o intervalo está modificado.

[00249] Como se utiliza en la presente memoria, los intervalos incluyen tanto el límite superior como el inferior.

[00250] Como se usa en el presente documento, se entiende que cuando la cantidad máxima de un valor está representada por 100 % (por ejemplo, 100 % de inhibición), el valor está limitado por el método de detección. Por ejemplo, se entiende por inhibición del 100 % la inhibición hasta un nivel inferior al nivel de detección del ensayo.

[00251] "Eficacia de edición" o "porcentaje de edición" como se usan en el presente documento es el número total de lecturas de secuencia con inserciones, eliminaciones o cambios de bases de nucleótidos en la región objetivo de interés sobre el número total de lecturas de secuencia después de la escisión o mella por RNP Cas.

[00252] Las "regiones", tal como se utilizan en el presente documento, describen porciones de ácidos nucleicos. Las regiones también pueden denominarse "módulos" o "dominios". Las regiones de un ARN_g pueden llevar a cabo funciones particulares, por ejemplo, en la dirección de la actividad endonucleasa del RNP, por ejemplo, como se describe en Briner AE et al., *Molecular Cell* 56:333–339 (2014), o tener estructuras previstas. En la Tabla 3 se describen regiones ejemplares de un ARN_g.

[00253] "Horquilla" o "estructura de horquilla", como se usa en el presente documento, describe un dúplex de ácidos nucleicos que se crea cuando una cadena de ácido nucleico se pliega y forma pares de bases con otra sección de la misma cadena. Una horquilla puede formar una estructura que comprende un bucle o una forma de U. En algunas modalidades, una horquilla puede estar compuesta por un bucle de ARN. Las horquillas se pueden formar uniendo dos secuencias complementarias en una sola molécula de ácido nucleico, con un plegamiento o arrugamiento de la molécula. En algunas modalidades, las horquillas comprenden estructuras de tallo o bucles de tallo. En algunas modalidades, una horquilla comprende un bucle y un tallo. Como se usa en el presente documento, cuando hay dos horquillas presentes en un ARN_g, una "región de horquilla" puede referirse a la horquilla 1 y la horquilla 2 y la secuencia intermedia (por ejemplo, "n") entre la horquilla 1 y la horquilla 2 de una región conservada de un ARN_g.

[00254] Tal como se utiliza en el presente documento, se entiende que "formar una parte de dúplex" es capaz de formar una parte de dúplex ininterrumpida o se prevé que forme una parte de dúplex ininterrumpida, por ejemplo, mediante emparejamiento de bases. Una parte de dúplex puede comprender dos secuencias complementarias, por ejemplo, una primera región del tallo en horquilla y una segunda región de tallo en horquilla complementaria a la primera. Como se usa en el presente documento, una parte de dúplex tiene una longitud de al menos 2 pares de bases. Una parte de dúplex comprende opcionalmente de 2-10 pares de bases, y las dos cadenas que forman la parte de dúplex pueden estar unidas, por ejemplo, mediante un bucle de nucleótidos. El emparejamiento de bases en un dúplex puede incluir el emparejamiento de bases Watson-Crick, opcionalmente en combinación con el apilamiento de bases. Como se usa en el presente documento, una parte de dúplex puede incluir una discontinuidad de un solo nucleótido en una hebra en la que cada nucleótido contiguo en una cadena está emparejado con un nucleótido en la cadena complementaria que puede tener una discontinuidad de un nucleótido sin emparejamiento de bases, por ejemplo, como en el nucleótido 96 de la SEQ ID NO: 500 en la horquilla 1, en donde la discontinuidad está flanqueada inmediatamente 5' y 3' con pares de bases Watson-Crick. Esto es distinto de los nucleótidos no apareados 36 y 65 en la región de la de repetición/antirrepetición, y de los nucleótidos no apareados 106 a 108 y 139 en la horquilla 2, lo que constituye una discontinuidad que da como resultado dos partes de dúplex, como se define en el presente documento. Las estructuras de ARN son conocidas en la técnica y hay herramientas disponibles para la predicción estructural de ARN (ver, por ejemplo, Sato et al., *Nature Comm.* 12:941 (2021); RNAstructure en rna.urmc.rochester.edu/RNAstructureWeb/Servers/Predict1/Predict1.html y RNAfold WebServer en rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi). Las longitudes de puente y la flexibilidad estructural requeridas para permitir un pliegue y formar un bucle para permitir que las nucleobases se acerquen suficientemente al par de bases son conocidas en la técnica.

[00255] Como se usa en el presente documento, un "agente de unión a ADN guiado por ARN" significa un polipéptido o complejo de polipéptidos que tienen 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 del ARN. Los agentes de unión a ADN guiados por ARN a modo de ejemplo incluyen cleavasas Cas (que tienen actividad de escisión de doble cadena), nicasas Cas (que tienen actividad de escisión de cadena única) y formas inactivadas de estas (agentes de unión a

ADN dCas). "Nucleasa Cas", tal como se utiliza en el presente documento, abarca cleavasas Cas, nicasas Cas y agentes de unión a ADN dCas. El agente de unión al ADN dCas puede ser una nucleasa muerta que comprende dominios de nucleasa no funcionales (dominio RuvC o HNH). En algunas modalidades, la escisión Cas o nicasa Cas abarca un agente de unión a ADN dCas modificado para permitir la escisión del ADN, por ejemplo, mediante fusión con un dominio FokI. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN tiene actividad nucleasa, por ejemplo, actividad de cleavasa o nicasa.

[00256] A continuación, se proporcionan secuencias de nucleótidos y polipéptidos de ejemplo de moléculas Cas9. Se conocen en la técnica los métodos para identificar las secuencias de nucleótidos que codifican las secuencias de polipéptidos Cas9, que incluyen variantes de origen natural alternativas. También se contemplan las secuencias con al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad con cualquiera de las secuencias de ácido nucleico de Cas9, secuencias de aminoácidos o secuencias de ácido nucleico que codifican las secuencias de aminoácido proporcionadas en la presente. En la Tabla 4A se proporcionan ejemplos de marcos de lectura abiertos para Cas9.

[00257] Como se usa en la presente, la "ribonucleoproteína" (RNP) o "complejo RNP" se refiere a un ARN guía junto con un agente de unión al ADN guiado por ARN, como una nucleasa Cas, por ejemplo, una escisión de Cas, una Cas nicasa o un agente de unión al ADN dCas (por ejemplo, Cas9). En algunas modalidades, el ARN guía dirige al agente de unión a ADN guiado por ARN, tal como Cas9 hacia una secuencia objetivo, y el ARN guía se hibrida con la secuencia objetivo y el agente se une a ella; en los casos en los que la nucleasa o proteína Cas es una cleavasa o nicasa, la unión puede ir seguida de una escisión o corte.

[00258] "Bucle de tallo", como se utiliza en el presente documento, describe una estructura secundaria de nucleótidos que forman un "tallo" de pares de bases que termina en un bucle de ácidos nucleicos no apareados. Se puede formar un tallo cuando dos regiones de la misma cadena de ácido nucleico tienen una secuencia al menos parcialmente complementaria cuando se leen en direcciones opuestas. "Bucle", como se utiliza en el presente documento, describe una región de nucleótidos que no tienen pares de bases (es decir, no son complementarios) y que pueden tapar un tallo. Un "tetrabucle" describe un bucle de 4 nucleótidos. Como se usa en el presente documento, el tallo superior de un ARNgu puede comprender un tetrabucle.

[00259] "ARN guía", "ARNg" y "guía" se utilizan en la presente indistintamente para referirse a la combinación de un ARNcr (también conocido como ARN CRISPR) y a un ARNtr (también conocido como ARNtracr). El ARNcr y el ARNtr pueden asociarse como una única molécula de ARN (ARN guía única, ARNgu) o en dos moléculas de ARN separadas (ARN guía doble, ARNgd). "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 secuencias naturales. Los ARN guía pueden incluir ARN modificados como se describe en la presente memoria. En algunas modalidades, un ARN guía como se usa en el presente documento no incluye un enlazador no nucleotídico para unir dos nucleótidos dentro del ARN guía. A menos que se desprenda lo contrario del contexto, los ARN guía descritos en el presente documento son adecuados para su uso con un Nme Cas9, por ejemplo, un Nme1, Nme2 o Nme3 Cas9. Por ejemplo, la FIG. 24 muestra un esquema de ejemplo de ARNgu de Nme2 en una posible estructura secundaria.

[00260] Como se usa en la presente, un nucleótido que se encuentra, por ejemplo, 6 nucleótidos desde el extremo 5' de un segmento de ARNgu particular es el sexto nucleótido de ese segmento, o "nucleótido 6" desde el extremo 5', por ejemplo, XXXXXN, donde N es el 6.º nucleótido desde el extremo

5'. Un intervalo de nucleótidos que se ubica "en o después" de 6 nucleótidos desde el extremo 5' comienza con el 6.º nucleótido y continúa a lo largo de la cadena hacia el extremo 3'. De manera similar, un nucleótido que está, por ejemplo, a 5 nucleótidos del extremo 3' de la cadena es el 5.º nucleótido cuando se cuenta desde el extremo 3' de la cadena, por ejemplo, NXXXX. Una posición o intervalo en la región guía hace referencia a la posición como se determina desde el extremo 5' a menos que se especifique otro punto de referencia; por ejemplo, "nucleótido 5" en una región guía es el 5.º nucleótido desde el extremo 5'.

[00261] El término "región conservada" se refiere a una región conservada de un ARNg de Cas9 ("NmeCas9") de *N. meningitidis* como se muestra en la Tabla 3. La primera fila muestra la numeración de los nucleótidos; la segunda fila muestra una secuencia de ejemplo (por ejemplo, SEQ ID NO: 500); y la tercera y cuarta fila muestran las regiones. Las regiones conservadas acortadas carecen de al menos un nucleótido que se muestra en la Tabla 3, como se analiza en detalle a continuación.

[00262] Como se usa en la presente, una región "acortada" en un ARNg es una región conservada de un ARNg que carece de al menos 1 nucleótido en comparación con la región conservada correspondiente que se muestra en la Tabla 3. De manera similar, "acortado" con respecto a un ARNgu significa que su región conservada comprende menos nucleótidos que la región conservada de ARNgu que se muestra en la Tabla 3. En ninguna circunstancia la "reducción" implica ninguna limitación particular en un proceso o manera de producción del ARNg.

[00263] "Sustituido" o "sustitución" como se usan en el presente documento con respecto a un polinucleótido se refiere a una alteración de una nucleobase, por ejemplo, sustitución de nucleótidos, que cambia su base preferida para el emparejamiento Watson-Crick. Cuando una determinada región de un ARN guía se encuentra "no sustituida" como se utiliza en la presente, la secuencia de la región puede alinearse a la de la región conservada correspondiente de un ARNgu de NmeCas9 (por ejemplo, SEQ ID NO: 500) o cualquier otro ARNg (por ejemplo, parte de las SEQ ID NO: 1-19, 21-42, 301-494, y 931-946) con espacios y coincidencias solamente (es decir, sin mal apareamientos), donde se considera que las bases coinciden si tienen la misma base relacionada estándar preferida (A, C, G o T/U) para el emparejamiento de Watson-Crick o tienen las interacciones de apilamiento como se muestra en la FIG. 25.

[00264] Como se usa en el presente documento, una "sustitución conservadora" con respecto a un polinucleótido se refiere a una alteración de una nucleobase que significa intercambiar posiciones de nucleótidos con emparejamiento de bases de manera que se puedan mantener los pares de bases. Por ejemplo, un par G-C se convierte en un par C-G, un par A-U en un par U-A u otro par de bases naturales o modificado.

[00265] Como se usan en el presente documento, "sustituido" y similares, con respecto a nucleótidos no apareados, por ejemplo, bucles de las regiones de repetición/antirrepetición, horquilla 1 o horquilla 2, es decir, los nucleótidos 49 a 52, 87 a 90 y 122 a 125 en la SEQ ID NO: 500, respectivamente, u otros nucleótidos no emparejados) hace referencia a la sustitución de uno o más nucleótidos, por ejemplo, 1, 2, 3 o 4 nucleótidos, de la secuencia de nucleótidos con un nucleótido diferente que no interfiere con la formación de una estructura mediante los nucleótidos desapareados, (por ejemplo, un abultamiento o un bucle) que puede, de esta manera, permitir la formación de una o más partes de dúplex, por ejemplo, en las regiones de repetición/antirrepetición, horquilla 1 u horquilla 2.

[00266] En algunas modalidades, un ARNg comprende nucleótidos que "coinciden con el patrón de modificación" en los nucleótidos correspondientes o especificados de un ARNg descrito en el presente documento. Esto significa que los nucleótidos que coinciden con el patrón de modificación

tienen las mismas modificaciones (por ejemplo, fosforotioato, 2'-fluoro, 2'-OMe, etc.) que los nucleótidos en las posiciones correspondientes del ARNg descrito en el presente documento, independientemente de si las nucleobases en esas posiciones coinciden. Por ejemplo, si en un primer ARNg, los nucleótidos 5 y 6, respectivamente, tienen modificaciones con 2'-OMe y fosforotioato, entonces este ARNg tiene el mismo patrón de modificación en los nucleótidos 5 y 6 que un segundo ARNg que también tiene 2'-OMe y modificaciones con fosforotioato en los nucleótidos 5 y 6, respectivamente, independientemente de si las nucleobases en las posiciones 5 y 6 son iguales o diferentes en el primer y segundo ARNg. Sin embargo, una modificación con 2'-OMe en el nucleótido 6, pero no en el nucleótido 7, no es el mismo patrón de modificación en los nucleótidos 6 y 7 que una modificación con 2'-OMe en el nucleótido 7, pero no en el nucleótido 6. De manera similar, un patrón de modificación que coincida en al menos 75 % del patrón de modificación de un ARNg descrito en el presente documento significa que al menos el 75 % de los nucleótidos tienen las mismas modificaciones que las posiciones correspondientes del ARNg descrito en el presente documento. Las posiciones correspondientes pueden determinarse mediante alineación estructural o por pares.

[00267] Como se utiliza en la presente, una "secuencia guía" o "región guía" y similares hacen referencia a una secuencia dentro de un ARN guía que es complementaria a una secuencia objetivo y funciona para dirigir un ARN guía hacia una secuencia objetivo para su unión o modificación (por ejemplo, escisión) mediante "secuencia guía" de NmeCas9A también puede designarse como una "secuencia objetivo" o una "secuencia espaciadora". Una secuencia guía puede tener una longitud de 20-25 nucleótidos, por ejemplo, en el caso de Nme Cas9, por ejemplo, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 nucleótidos de longitud.

[00268] Las secuencias objetivo para agentes de unión a ADN guiados por ARN incluyen tanto cadenas positivas como negativas de ADN genómico (es decir, la secuencia dada y el complemento inverso de la secuencia), como un sustrato de ácido nucleico para un agente de unión a ADN guiado por ARN es un ácido nucleico de doble cadena. Por consiguiente, cuando se dice que una secuencia guía es "complementaria de una secuencia objetivo", debe entenderse que la secuencia guía puede dirigir un ARN guía para que se una a la cadena sentido o antisentido (por ejemplo, complemento inverso) de una secuencia objetivo. Por lo tanto, en algunas modalidades, donde la secuencia guía se une al complemento inverso de una secuencia objetivo, la secuencia guía es idéntica a ciertos nucleótidos de la secuencia diana (por ejemplo, la secuencia objetivo que no incluye el PAM) excepto por la sustitución de U por T en la secuencia guía.

[00269] Como se usa en el presente documento, el "extremo 5'" hace referencia al primer nucleótido de ARNg, inclusive un ARNgd (típicamente el extremo 5' del ARNcr del ARNgd) y ARNgu, es decir, el extremo 5' de la secuencia guía, en la que la posición 5' no está unida a ningún otro nucleótido.

[00270] Como se usa en el presente documento, una "modificación del extremo 5'" se refiere a un ARNg que comprende una región guía que tiene modificaciones en uno o más de uno (1) a alrededor de siete (7) nucleótidos, opcionalmente hasta alrededor de cuatro (4) nucleótidos en su extremo 5', opcionalmente en donde el primer nucleótido (desde el extremo 5') del ARNg se modifica.

[00271] Como se usa en el presente documento, el "extremo 3'" se refiere al extremo o nucleótido terminal de un ARNg, en el que la posición 3' no está unida a otro nucleótido. En algunas modalidades, el extremo 3' está en la cola 3'. En algunas modalidades, el extremo 3' está en la región conservada de un ARNg.

[00272] Como se usa en el presente documento, una "modificación de extremo 3'" hace referencia a un ARNg que tiene modificaciones en uno o más del uno (1) a alrededor de siete (7) nucleótidos, opcionalmente alrededor de cuatro (4) nucleótidos, en su extremo 3', opcionalmente donde se modifica

el último nucleótido (es decir, el nucleótido más hacia 3') del ARNg. Si está presente una cola 3', el 1 a alrededor de 7 nucleótidos, opcionalmente alrededor de cuatro (4), pueden encontrarse dentro de la cola 3'. Si no está presente una cola 3', el 1 a alrededor de 7 nucleótidos, opcionalmente alrededor de cuatro (4) nucleótidos, pueden encontrarse dentro de la región conservada de un ARNgu.

5 [00273] El "último", "penúltimo", "antepenúltimo", etc., nucleótido se refiere al nucleótido más 3', segundo más 3', tercero más 3', etc., respectivamente, en una secuencia dada. Por ejemplo, en la secuencia 5'-AAACTG-3', el último, penúltimo y antepenúltimo nucleótido son G, T y C, respectivamente. La frase "últimos 3 nucleótidos" se refiere al último, penúltimo y antepenúltimo nucleótido; de manera más general, "últimos N nucleótidos" se refiere al último al enésimo nucleótido, inclusive. "Tercer nucleótido desde el extremo 3' del extremo 3'" equivale a "antepenúltimo nucleótido". De manera similar, "tercer nucleótido desde el extremo 5' del extremo 5'" equivale a "tercer nucleótido en el extremo 5'".

10 [00274] Como se usa en el presente documento, una "modificación del extremo protector" (tal como una modificación protectora del extremo 5' o una modificación protectora del extremo 3') se refiere a una modificación de uno o más nucleótidos dentro de siete nucleótidos, opcionalmente cuatro nucleótidos, del extremo de un ARNgu que reduce la degradación del ARNgu, como la degradación exonucleolítica. En algunas modalidades, una modificación del extremo protector comprende modificaciones de al menos dos o al menos tres nucleótidos dentro de siete nucleótidos, opcionalmente cuatro nucleótidos, del extremo del ARNgu. En algunas modalidades, las modificaciones comprenden enlaces fosforotioato, modificaciones 2' tales como 2'-OMe o 2'-fluoro, 2'-H (ADN), ENA, UNA o una combinación de estos. En algunas modalidades, las modificaciones comprenden enlaces fosforotioato y modificaciones 2'-OMe. En algunas modalidades, se modifican al menos tres nucleótidos terminales, por ejemplo, con enlaces fosforotioato o con una combinación de modificaciones con enlaces de fosforotioato y con 2'-OMe. En algunas modalidades, se modifican al menos dos nucleótidos terminales, por ejemplo, con enlaces fosforotioato o con una combinación de modificaciones con enlaces fosforotioato y 2'-OMe. Se abarcan modificaciones conocidas por los expertos en la técnica para reducir la degradación exonucleolítica.

[00275] En algunas modalidades, una "cola 3'" que comprende alrededor de 1-10 nucleótidos, opcionalmente alrededor de 1-4 nucleótidos, que le sigue a la región conservada de un ARNgu en su extremo 3'.

30 [00276] Se han obtenido varios ortólogos de Cas9 de *N. meningitidis* (Esvelt et al., NAT. METHODS, vol. 10, 2013, 1116 - 1121; Hou et al., PNAS, vol. 110, 2013, páginas 15644 - 15649) (Nme1Cas9, Nme2Cas9, y Nme3Cas9). El ortólogo Nme2Cas9 funciona eficientemente en células de mamíferos, reconoce un PAM N4CC y puede usarse para la edición in vivo (Ran et al., NATURE, vol. 520, 2015, páginas 186 - 191; Kim et al., NAT. COMMUN., vol. 8, 2017, páginas 14500). Se ha demostrado que Nme2Cas9 es naturalmente resistente a la edición fuera del objetivo (Lee et al., MOL. THER., vol. 24, 2016, páginas 645 - 654; Kim et al., 2017). Véase también, por ejemplo, el documento WO/2020081568 (por ejemplo, páginas 28 y 42), que describe una nicasa Nme2Cas9 D16A, cuyo contenido se incorpora en la presente como referencia en su totalidad. Además, se conocen variantes de NmeCas9 en la técnica; véase, por ejemplo, Huang et al., Nature Biotech. 2022, doi.org/10.1038/s41587-022-01410-2, que describe variantes de Cas9 dirigidas a PAM de pirimidina de un solo nucleótido.

40 [00277] Como se usa en el presente documento, "NmeCas9" (a veces denominado "Cas9") abarca NmeCas9, por ejemplo, Nme1Cas9, Nme2Cas9 y Nme3Cas9; las variantes de NmeCas9 enumeradas en el presente documento y sus equivalentes. Véase, por ejemplo, Edraki et al., Mol. Cell 73:714-726, 2019. Las "nucleasas Cas", también denominadas "proteína Cas", como se utiliza en la

presente, comprenden cleavasas Cas, nicasas Cas que tienen adicionalmente actividad de cleavasas o nicasas de ADN guiado por ARN, y agentes de unión a ADN dCas, en las que la actividad de cleavasas/nicasas se ve inactivada. En algunas modalidades, NmeCas9 tiene actividad de escisión de doble cadena. En algunas modalidades, NmeCas9 tiene actividad de nicasa. En algunas modalidades, NmeCas9 comprende un dominio de unión a ADN dCas.

[00278] Como se utiliza en la presente memoria, se considera que una primera secuencia "comprende una secuencia con al menos un X % de identidad con" una segunda secuencia si una alineación de la primera secuencia con la segunda secuencia muestra que el X % o más de las posiciones de la segunda secuencia en su totalidad coincide con la primera secuencia. Por ejemplo, la secuencia AAGA comprende una secuencia con 100 % de identidad con la secuencia AAG porque una alineación daría el 100 % de identidad porque 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 como las uridinas modificadas no contribuyen a diferencias en identidad o complementariedad entre polinucleótidos siempre que los nucleótidos relevantes (como timidina, uridina o uridina modificada) tienen el mismo complemento (por ejemplo, adenosina para todas las timidina, uridina o uridina modificada; otro ejemplo es la citosina y la 5-metilcitosina, las cuales tienen guanosina o guanosina modificada como complemento). Así, por ejemplo, la secuencia 5'-AXG donde X es cualquier uridina modificada, como pseudouridina, N1-metil pseudouridina o 5-metoxiuridina, se considera 100 % idéntica a AUG en el sentido de que ambas son perfectamente complementarias de la misma secuencia (5'-CAU). Los algoritmos de alineación ejemplares son los algoritmos Smith-Waterman y Needleman-Wunsch, que son conocidos en la técnica. Un experto en la técnica comprenderá qué elección de los ajustes de algoritmo y parámetro es apropiada para un par de secuencias dado que se alinearán; 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 de algoritmo Needleman-Wunsch proporcionada por el EBI en el servidor web www.ebi.ac.uk es generalmente apropiado.

[00279] "ARNm" se usa en el presente documento para referirse a un polinucleótido que es ARN o ARN modificado y comprende un marco abierto de lectura que puede traducirse en un polipéptido (es decir, puede servir como sustrato para la traducción mediante un ribosoma y ARNt aminoacilados). El ARNm puede comprender una cadena principal de fosfato-azúcar que incluye residuos de ribosa o análogos de estos, por ejemplo, residuos de 2'-metoxi ribosa. En algunas modalidades, los azúcares de una cadena principal de fosfato-azúcar de ácido nucleico 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 inferior al 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. Un ARNm modificado comprende al menos un nucleótido en el que uno o más de los fosfatos, azúcares o nucleobases difieren de los de un nucleótido de adenosina, citidina, guanidina o uridina estándar.

[00280] Tal como se utiliza en el presente documento, un "sujeto" se refiere a cualquier miembro del reino animal. En algunas modalidades, "sujeto" se refiere a humanos. En algunas modalidades, "sujeto" se refiere a animales no humanos. En algunas modalidades, "sujeto" se refiere a primates. En alguna modalidad, "sujeto" se refiere a primates no humanos. En algunas modalidades, los sujetos incluyen, de forma no taxativa, mamíferos, aves, reptiles, anfibios, peces, insectos o gusanos. En determinadas modalidades, el sujeto no humano es un mamífero (por ejemplo, un roedor, un ratón, una

rata, un conejo, un mono, un perro, un gato, una oveja, un ganado vacuno, un primate o un cerdo). En algunas modalidades, un sujeto puede ser un animal transgénico, un animal modificado genéticamente o un clon. En algunas modalidades de la invención, el sujeto es un adolescente. En algunas modalidades, se utilizan los términos "individuo" o "paciente" y pretenden ser intercambiables con "sujeto" en donde el sujeto es un sujeto humano.

[00281] Como se utiliza en la presente memoria, "tratamiento" hace referencia a cualquier administración o aplicación de un producto terapéutico para la enfermedad o trastorno en un sujeto, e incluye enlentecer o detener el desarrollo o la evolución de la enfermedad, aliviar uno o más signos o síntomas de la enfermedad, curar la enfermedad, o prevenir la recidiva de uno o más síntomas de la enfermedad.

[00282] Como se utiliza en la presente, "suministrar" y "administrar" se utilizan de forma intercambiable, e incluyen aplicaciones *ex vivo* e *in vivo*.

[00283] La coadministración, como se usa en el presente documento, significa que se administran una pluralidad de sustancias lo suficientemente cercanas en el tiempo para que los agentes actúen juntos. La coadministración abarca la administración de sustancias juntas en una única formulación y la administración de sustancias en formulaciones separadas lo suficientemente cerca en el tiempo para que los agentes actúen juntos.

[00284] Como se usa en el presente documento, la frase "farmacéuticamente aceptable" significa aquello que es útil para preparar una composición farmacéutica que generalmente no es tóxica y no es biológicamente indeseable y que de otro modo no es inaceptable para uso farmacéutico. Farmacéuticamente aceptable generalmente se refiere a sustancias que no son pirogénicas. Farmacéuticamente aceptable puede referirse a sustancias que son estériles, especialmente para sustancias farmacéuticas que son para inyección o infusión.

I. ARN guía con una o más regiones conservadas acortadas

[00285] Se proporciona en la presente ARN (ARNg) que comprende una o más regiones conservadas acortadas.

[00286] En algunas modalidades, un ARNg proporcionado en la presente comprende una región guía y una región conservada que comprende una región de repetición/antirrepetición, una región de horquilla 1 y una región de horquilla 2, en donde una o más de la región/antirrepetición, la región de horquilla 1 y la región de horquilla 2 se acortan. En algunas modalidades, el ARNg es Cas9 de *N. meningitidis* (NmeCas9).

[00287] En algunas modalidades, la región conservada comprende uno o más:

(a) una región de repetición/antirrepetición acortada, en donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 37-48 y 53-64 y opcionalmente uno o más de los nucleótidos 37-64 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante al menos 2 nucleótidos; o

(b) una región de horquilla 1 acortada, en donde la horquilla 1 acortada carece de 2-10, opcionalmente, 2 a 8 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 82-86 y 91-95 y, opcionalmente, una o más de las posiciones 82-96 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante al menos 4 nucleótidos; o

(c) una región de horquilla 2 acortada, en donde la horquilla 2 acortada carece de 2-18, opcionalmente, 2-16 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 113-121 y 126-134 y opcionalmente se sustituyen uno

o más de los nucleótidos 113-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 112 está unido al nucleótido 135 mediante al menos 4 nucleótidos;

en donde se eliminan uno de los nucleótidos 144-145 o ambos opcionalmente en comparación con la SEQ ID NO: 500;y

5 donde al menos 10 nucleótidos son nucleótidos modificados.

[00288] En algunas modalidades, la región conservada comprende:

una región de repetición/antirrepetición acortada, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos, donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 37-48 y 53-64 y opcionalmente se sustituyen uno o más

10 nucleótidos 37-64 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante al menos 2 nucleótidos.

donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos en la región conservada son nucleótidos modificados.

15 [00289] En algunas modalidades, la región conservada comprende:

una región de horquilla 1 acortada, en donde la horquilla 1 acortada carece de 2-10, opcionalmente, 2-8 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 82-86 y 91-95 y opcionalmente una o más posiciones 82-96 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

20 (ii) el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante al menos 4 nucleótidos;

en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos en la región conservada son nucleótidos modificados.

[00290] En algunas modalidades, la región conservada comprende:

25 una región de horquilla 2 acortada, donde la horquilla 2 acortada carece de 2-18, opcionalmente, 2-16 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 113-121 y 126-134 y opcionalmente se sustituyen uno o más nucleótidos 113-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 112 está unido al nucleótido 135 mediante al menos 4 nucleótidos;

30 donde uno o ambos de los nucleótidos 144-145 se eliminan opcionalmente con respecto a la SEQ ID NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos en la región conservada son nucleótidos modificados.

[00291] En algunas modalidades, la región conservada comprende:

(a) una región de repetición/antirrepetición acortada, en donde la región de repetición/antirrepetición

35 acortada carece de 2-24 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 37-48 y 53-64 y, opcionalmente, se sustituyen uno o más de los nucleótidos 37-64 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante al menos 2 nucleótidos; y

(b) una región de horquilla 1 acortada, en donde la horquilla 1 acortada carece de 2-10, opcionalmente,

40 2-8 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 82-86 y 91-95 y opcionalmente una o más posiciones 82-96 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante al menos 4 nucleótidos; o

en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID

45 NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos en la región conservada son nucleótidos modificados.

[00292] En algunas modalidades, la región conservada comprende:

(a) una región de repetición/antirrepetición acortada, en donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos, en donde

5 (i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 37-48 y 53-64 y se sustituyen opcionalmente uno o más nucleótidos 37-64 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante al menos 2 nucleótidos; y

(b) una región de horquilla 2 acortada, en donde la horquilla 2 acortada carece de 2-18, opcionalmente, 2-16 nucleótidos, en donde

10 (i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 113-121 y 126-134 y opcionalmente se sustituyen uno o más de los nucleótidos 113-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 112 está unido al nucleótido 135 mediante al menos 4 nucleótidos;

en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500;

15 donde al menos 10 nucleótidos en la región conservada son nucleótidos modificados.

[00293] En algunas modalidades, la región conservada comprende:

(a) una región de horquilla 1 acortada, en donde la horquilla 1 acortada carece de 2-10, opcionalmente, 2-8 nucleótidos, en donde

20 (i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 82-86 y 91-95 y se sustituyen opcionalmente una o más de las posiciones 82-96 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante al menos 4 nucleótidos; y

(b) una región de horquilla 2 acortada, en donde la horquilla 2 acortada carece de 2-18, opcionalmente, 2-16 nucleótidos, en donde

25 (i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 113-121 y 126-134 y opcionalmente se sustituyen uno o más de los nucleótidos 113-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 112 está unido al nucleótido 135 mediante al menos 4 nucleótidos;

en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 en comparación con la SEQ ID NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos en la región conservada son nucleótidos modificados.

30 [00294] En algunas modalidades, la región conservada comprende:

(a) una región de repetición/antirrepetición acortada, en donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos, en donde

35 (i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 37-48 y 53-64 y, opcionalmente, se sustituyen uno o más de los nucleótidos 37-64 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y(ii) el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante al menos 2 nucleótidos.

(b) una región de horquilla 1 acortada, en donde la horquilla 1 acortada carece de 2-10, opcionalmente, 2-8 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 82-86 y 91-95 y, opcionalmente, se sustituye una o más de las posiciones 82-96 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

40 (ii) el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante al menos 4 nucleótidos; y

(c) una región de horquilla 2 acortada, en donde la horquilla 2 acortada carece de 2-18, opcionalmente, 2-16 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 113-121 y 126-134 y, opcionalmente, se sustituyen uno o más nucleótidos 113-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

45 (ii) el nucleótido 112 está unido al nucleótido 135 mediante al menos 4 nucleótidos;

en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos de la región conservada son nucleótidos modificados.

[00295] En algunas modalidades, el ARNg descrito en la presente es un ARNgu.

5 [00296] En algunas modalidades, se eliminan uno o más nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00297] En algunas modalidades, al menos 10 nucleótidos de la región conservad son nucleótidos modificados.

10 [00298] En algunas modalidades, una región de repetición/antirrepetición de un ARNg es una región de repetición/antirrepetición acortada que carece de 2-24 nucleótidos, por ejemplo, cualquiera de las regiones de repetición/antirrepetición indicadas en las modalidades numeradas anteriores o en las Tablas 1-2 o descrita en otra parte del presente documento, que puede combinarse con cualquiera de las regiones de horquilla 1 acortada o región de horquilla 2 descritas en el presente documento, incluidas, de forma no taxativa, combinaciones indicadas en las modalidades numeradas anteriores y representadas en las secuencias de las Tablas 1-2 o descritas en otra parte del presente. En algunas modalidades, una o más de las posiciones 49-52, 87-90 o 122-125 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500. En algunas modalidades, todas las posiciones 49-52, 87-90, o 122-125 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500. En algunas modalidades, se elimina la cola 3' proporcionada en las Tablas 1-2 o descrita en el presente documento.

20 [00299] En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada de la ARNg carece de 18 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada de la ARNg carece de 22 nucleótidos.

[00300] En algunas modalidades, en la región de repetición/antirrepetición acortada del ARNg, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 por 6 nucleótidos. En algunas modalidades, en la región de repetición/antirrepetición acortada del ARNg, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante 7 nucleótidos. En algunas modalidades, en la región de repetición/antirrepetición acortada del ARNg, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante 8 nucleótidos. En algunas modalidades, en la región de repetición/antirrepetición acortada del ARNg, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante 9 nucleótidos. En algunas modalidades, en la región de repetición/antirrepetición acortada del ARNg, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante 10 nucleótidos.

[00301] En algunas modalidades, en la región de repetición/antirrepetición acortada del ARNg, se eliminan los nucleótidos 38-48 y 53-63 con respecto a la SEQ ID NO: 500. En algunas modalidades, en la región de repetición/antirrepetición acortada del ARNg, se eliminan los nucleótidos 38, 41-48, 53-60 y 63 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

35 [00302] En algunas modalidades, en la región de repetición/antirrepetición acortada del ARNg, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante 6 nucleótidos. En algunas modalidades, en la región repetitiva/anti-repetición acortada del ARNg, se eliminan los nucleótidos 38-48 y 53-63 con respecto a la SEQ ID NO: 500, y el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante los nucleótidos 37, 49-52 y 64.

40 [00303] En algunas modalidades, en la región de repetición/antirrepetición acortada del ARNg, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante 10 nucleótidos. En algunas modalidades, en la región de repetición/antirrepetición acortada del ARNg, se eliminan los nucleótidos 38, 41-48, 53-60, y 63 con respecto a la SEQ ID NO: 500, y el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante los nucleótidos 37, 39, 40, 49-52, 61, 62 y 64.

45 [00304] En algunas modalidades, todos los nucleótidos 38-48 y nucleótidos 53-63 del tallo

superior de la región de repetición/antirrepetición acortada se eliminan con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00305] En algunas modalidades, se eliminan todos los nucleótidos 39-48 y los nucleótidos 53-62 del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada con respecto a la SEQ IN NO: 500 y se sustituyen los nucleótidos 38 y 63.

[00306] En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene 14 nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene 15 nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene 16 nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene de 17 nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene 18 nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene 19 nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene 20 nucleótidos modificados.

[00307] En algunas modalidades, la región de horquilla 1 acortada carece de 2 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de horquilla 1 acortada carece de 21 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de horquilla 1 acortada carece de 2 nucleótidos y se eliminan los nucleótidos 86 y 91 con respecto a la SEQ ID NO: 500. En algunas modalidades, la región de horquilla 1 acortada carece de 2 nucleótidos y se eliminan los nucleótidos 85 y 92 con respecto a la SEQ ID NO: 500. En algunas modalidades, en la región de horquilla 1 acortada, el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante 12 nucleótidos. En algunas modalidades, en la región de horquilla 1 acortada, el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante 12 nucleótidos. En algunas modalidades, en la región de horquilla 1 acortada, se eliminan los nucleótidos 86 y 91 con respecto a la SEQ ID NO: 500, y el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante los nucleótidos 82-85, 87-90 y 92-95. En algunas modalidades, en la región de horquilla 1 acortada, se eliminan los nucleótidos 85 y 92 con respecto a la SEQ ID NO: 500, y el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante los nucleótidos 82-84, 86-91 y 93-95.

[00308] En algunas modalidades, la región de horquilla 1 acortada tiene una parte de dúplex de 7 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud. En algunas modalidades, la región de horquilla 1 acortada tiene una parte de dúplex de 8 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.

[00309] En el tallo de la región de horquilla 1 acortada tiene una longitud de siete nucleótidos con emparejamiento de base. En algunas modalidades, se eliminan los nucleótidos 85-86 y los nucleótidos 91-92 de la región de horquilla 1 acortada.

[00310] En algunas modalidades, la región de horquilla 1 acortada tiene 13 nucleótidos modificados.

[00311] En algunas modalidades, la horquilla acortada 2 carece de 18 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla acortada 2 carece de 24 nucleótidos. En algunas modalidades, en la horquilla acortada 2 se eliminan los nucleótidos 113-121 y 126-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500. En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada carece de 18 nucleótidos y se eliminan los nucleótidos 113-121 y 126-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500. En algunas modalidades, en la región de horquilla 2 acortada, el nucleótido 112 está unido al nucleótido 135 mediante 4 nucleótidos. En algunas modalidades, en la región de horquilla 2 acortada, se eliminan los nucleótidos 113-121 y 126-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500 y el nucleótido 112 está unido al nucleótido 135 mediante los nucleótidos 122-125.

[00312] En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 28 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 32 nucleótidos.

[00313] En algunas modalidades, el tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada comprende no más de un par de bases. En algunas modalidades, el tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada comprende no más de tres pares de bases.

[00314] En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada tiene 8 nucleótidos modificados.

[00315] En algunas modalidades, un ARN guía (ARNg) comprende una región guía y una región conservada, la región conservada comprende:

(a) una región de repetición/antirrepetición acortada, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 18-22 nucleótidos con respecto a la SEQ ID NO: 500, en donde

(i) los nucleótidos 38-48 y 53-63 se eliminan; y

(ii) el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante al menos 6-10 nucleótidos;

(b) una región de horquilla 1 acortada, donde la horquilla 1 acortada carece de 2 nucleótidos, donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 o se eliminan los nucleótidos 85 y 92 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(c) una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan la horquilla 2 acortada carece de 18 nucleótidos, donde los nucleótidos 113-121 y 126-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y donde se eliminan los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500; donde al menos 10 nucleótidos son nucleótidos modificados.

[00316] En algunas modalidades, un ARN guía (ARNg) comprende una región guía y una región conservada, la región conservada comprende:

(a) una región de repetición/antirrepetición acortada, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 18-22 nucleótidos con respecto a la SEQ ID NO: 500, en donde

(i) se eliminan los nucleótidos 38, 41-48, 53-60 y 63; y

(ii) el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante al menos 6-10 nucleótidos;

(b) una región de horquilla 1 acortada, donde la horquilla 1 acortada carece de 2 nucleótidos, donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 o se eliminan los nucleótidos 85 y 92 con respecto a la SEQ ID NO: 500;

(c) una región de horquilla 2 acortada, donde la horquilla 2 acortada carece de 18 nucleótidos, donde los nucleótidos 113-121 y 126-134 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

en donde se eliminan los nucleótidos 144-145 con respecto a SEQ ID NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos son nucleótidos modificados.

[00317] En algunas modalidades, se proporciona un ARN guía (ARNg), el ARNg comprende una región guía y una región conservada, la región conservada comprende uno o más de:

(a) una región de repetición/antirrepetición acortada, en donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 18-22 nucleótidos con respecto a la SEQ ID NO: 500, en donde

(i) se eliminan los nucleótidos 37-48 y 53-64; y

(ii) el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante al menos 6-10 nucleótidos; o

(b) una región de horquilla 1 acortada, donde la horquilla 1 acortada carece de 2 nucleótidos, donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 o se eliminan los nucleótidos 85 y 92 con respecto a la SEQ ID NO:

500; o

(c) una región de horquilla 2 acortada, donde la horquilla 2 acortada carece de 18 nucleótidos, donde se eliminan los nucleótidos 113-121 y 126-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

en donde se eliminan los nucleótidos 144-145 con respecto a SEQ ID NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos son nucleótidos modificados.

[00318] En modalidades adicionales, la región de repetición/antirrepetición acortada, donde la

región de repetición/antirrepetición acortada carece de 22 nucleótidos con respecto a la SEQ ID NO: 500. En modalidades adicionales, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante una secuencia que comprende la secuencia de nucleótidos UGAAAC. En modalidades adicionales, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 por 10 nucleótidos. En modalidades adicionales, el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante una secuencia que comprende la secuencia de nucleótidos UUCGAAAGAC (SEQ ID NO: 950).

[00319] En algunas modalidades, el ARN guía (ARNg) de la modalidad anterior que comprende una región guía y una región conservada, la región conservada comprende:

(a) una región de repetición/antirrepetición acortada, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 18-22 nucleótidos, donde

(i) los nucleótidos 37-48 y 53-64 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante al menos 6-10 nucleótidos;

(b) una región de horquilla 1 acortada, donde la horquilla 1 acortada no tiene 2 nucleótidos con respecto a la SEQ ID NO: 500, donde los nucleótidos 86 y 91 se eliminan o los nucleótidos 85 y 92 se eliminan;

(c) una región de horquilla 2 acortada, donde la horquilla 2 acortada carece de 18 nucleótidos, en la que los nucleótidos 113-121 y 126-134 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(d) donde los nucleótidos 144-145 se eliminan con respecto a la SEQ ID NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos son nucleótidos modificados.

[00320] En modalidades adicionales, la región de repetición/antirrepetición acortada, donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 22 nucleótidos con respecto a la SEQ ID NO: 500. En modalidades adicionales, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante una secuencia que comprende la secuencia de nucleótidos UGAAAC. En modalidades adicionales, el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 por 10 nucleótidos. En modalidades adicionales, el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante una secuencia que comprende la secuencia de nucleótidos UUCGAAAGAC (SEQ ID NO: 950).

A. Región de repetición/antirrepetición acortada

[00321] En algunas modalidades, un ARNg descrito en la presente comprende una región conservada que comprende una región de repetición/antirrepetición acortada. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición comprende una estructura de horquilla entre una primera parte y una segunda parte de la región de repetición/antirrepetición, donde la primera parte y la segunda parte de la región de repetición/antirrepetición forman, en conjunto, una parte de dúplex.

[00322] En algunas modalidades, una parte conservada de un ARNg descrito en la presente comprende una región de tallo superior acortada de la región de repetición/ antirrepetición. En algunas modalidades, la región de repetición/ antirrepetición comprende un bucle (por ejemplo, un tetrabucle).

[00323] En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos. En algunas modalidades, (i) uno o más nucleótidos 37-48 y 53-64 se elimina y opcionalmente uno o más de los nucleótidos 37-64 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500; y (ii) el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante al menos 4 nucleótidos.

[00324] En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos.

[00325] En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 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.

[00326] En algunas modalidades, la región de repetición- antirrepetición acortada carece de 12-24, opcionalmente, 18-24 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición

acortada tiene una longitud de 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o 40 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 28, 29, 30, 31, 32, 33, o 34 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 28 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 29 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de repetición/ antirrepetición acortada tiene una longitud de 30 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 31 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 32 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 33 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 34 nucleótidos.

[00327] En algunas modalidades, los nucleótidos 37-64 de la SEQ ID NO: 500 forman el tallo superior, y se eliminan uno o más pares de bases del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada. En algunas modalidades, el tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada comprende no más de uno, dos, tres o cuatro pares de bases. En algunas modalidades, se eliminan todas las posiciones 38-48 y todas las posiciones 53-63 del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada. En algunas modalidades, se eliminan todos los nucleótidos 37-48 y 53-64 del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición. Como se usa en el presente documento, "pares de bases" o "nucleótidos con emparejamiento de Watson-Crick" incluyen cualquier par capaz de formar un par de bases de Watson-Crick, incluidos los pares A-T, A-U, T-A, U-A, C-G y G-C, y pares que incluyen versiones modificadas de cualquiera de los nucleótidos anteriores que tienen la misma preferencia de emparejamiento de bases. Como se usa en la presente, los pares de bases o nucleótidos con emparejamiento de bases también incluyen pares de bases generados mediante apilamiento de bases, por ejemplo, los nucleótidos 25 y 76, 33 y 68, 34 y 67, y 37 y 64 en la región de repetición/antirrepetición; y los nucleótidos 78 y 100, y 83 y 94 en la región de horquilla 1.

[00328] En algunas modalidades, se elimina una o más de las posiciones 37-48. En algunas modalidades, se elimina la posición 37. En algunas modalidades, se elimina la posición 38. En algunas modalidades, se elimina la posición 39. En algunas modalidades, se elimina la posición 40. En algunas modalidades, se elimina la posición 41. En algunas modalidades, se elimina la posición 42. En algunas modalidades, se elimina la posición 43. En algunas modalidades, se elimina la posición 44. En algunas modalidades, se elimina la posición 45. En algunas modalidades, se elimina la posición 46. En algunas modalidades, se elimina la posición 47. En algunas modalidades, se elimina la posición 48.

[00329] En algunas modalidades, se elimina una o más de las posiciones 53-63. En algunas modalidades, se elimina la posición 53. En algunas modalidades, se elimina la posición 54. En algunas modalidades, se elimina la posición 55. En algunas modalidades, se elimina la posición 56. En algunas modalidades, se elimina la posición 57. En algunas modalidades, se elimina la posición 58. En algunas modalidades, se elimina la posición 59. En algunas modalidades, se elimina la posición 60. En algunas modalidades, se elimina la posición 61. En algunas modalidades, se elimina la posición 62. En algunas modalidades, se elimina la posición 63. En algunas modalidades, se elimina la posición 64.

[00330] En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una parte de dúplex de 11 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud. En algunas modalidades, la región de repetición/ antirrepetición acortada tiene una única parte de dúplex.

[00331] En algunas modalidades, se eliminan uno o más de los nucleótidos con emparejamiento de bases en la región de repetición/antirrepetición. En algunas modalidades, uno o más de nucleótidos

con emparejamiento de bases se eligen de las posiciones 37 y 53, posiciones 38 y 54, posiciones 39 y 55, posiciones 40 y 56, posiciones 41 y 57, posiciones 43 y 58, posiciones 43 y 59, posiciones 44 y 60, posiciones 45 y 61, posiciones 46 y 62, posiciones 47 y 63, y posiciones 48 y 64.

[00332] En algunas modalidades, la región del tallo superior de la región de repetición /antirrepetición comprende de 1 a 5 pares de bases.

[00333] En algunas modalidades, el tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada incluye una o más sustituciones con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00334] En algunas modalidades, una o más sustituciones son sustituciones conservadoras que mantienen el o los pares de bases. Por ejemplo, un par G-C se convierte en un par C-G u otro emparejamiento de base natural o modificado, o un par A-U se convierte en un par U-A u otro emparejamiento de bases natural o modificado. En algunas modalidades, una o más sustituciones son sustituciones conservadoras que intercambian posiciones de nucleótidos con pares de bases (por ejemplo, un par G-C se convierte en un par C-G, o un par A-U se convierte en un par U-A).

[00335] En algunas modalidades, se sustituye uno o más de los nucleótidos 49-52 con respecto a la SEQ ID NO: 500. En algunas modalidades, la región de repetición/antirrepetición acortada no se encuentra sustituida.

[00336] En algunas modalidades, la región de repetición/ antirrepetición acortada tiene 12-22 nucleótidos modificados.

B. Región de horquilla 1 acortada

[00337] En algunas modalidades, un ARNg descrito en la presente comprende una región conservada que comprende una región de horquilla 1 acortada. En algunas modalidades, la región de horquilla 1 comprende una estructura de horquilla entre una primera parte y una segunda parte de la región de horquilla 1, en donde la primera parte y la segunda parte forman en conjunto una parte de dúplex.

[00338] En algunas modalidades, un ARNg descrito en la presente comprende una región conservada que comprende una región de tallo superior acortada de la región de horquilla 1. En algunas modalidades, la horquilla 1 comprende un bucle (por ejemplo, un tetrabucle).

[00339] En algunas modalidades, la horquilla 1 acortada carece de 2-10 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla 1 acortada carece de 2-8 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla 1 acortada carece de 2-4 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla acortada carece de 2 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla acortada carece de 3 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla acortada carece de 4 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla acortada carece de 5 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla acortada carece de 6 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla acortada carece de 7 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla acortada carece de 8 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla acortada carece de 9 nucleótidos. En algunas modalidades, la horquilla acortada carece de 10 nucleótidos. En algunas modalidades, (i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 82-86 y 91-95 y opcionalmente se sustituyen una o más posiciones 82-95 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y (ii) nucleótido 81 se enlaza al nucleótido 96 mediante al menos 4 nucleótidos.

[00340] En algunas modalidades, donde la región de horquilla 1 acortada carece de 2-10 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de horquilla 1 acortada tiene una longitud de 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 nucleótidos. En algunas modalidades, en donde la región de horquilla 1 acortada tiene una parte de dúplex de 7-8 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud. Como se usa en el presente documento, no se considera que el nucleótido 96 interrumpa la parte dúplex de la horquilla 1 cuando uno o más de los pares de bases 82 y 95, 83 y 94, 85 y 93, y 86 y 92 están presentes.

[00341] En algunas modalidades, la región de horquilla 1 acortada tiene una única parte de dúplex. En algunas modalidades, en la región de horquilla 1 acortada, las posiciones 78 y 100, y las posiciones 83 y 94 tienen interacciones de apilamiento de bases y no constituyen una discontinuidad en la parte de dúplex.

5 [00342] En algunas modalidades, se eliminan uno o dos pares de bases de la región de horquilla 1 acortada. En algunas modalidades, el tallo de la región de horquilla 1 acortada comprende uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho pares de bases. En algunas modalidades, el tallo de la región de horquilla 1 acortada tiene una longitud de siete u ocho nucleótidos con emparejamiento de bases.

[00343] En algunas modalidades, se eliminan una o más de las posiciones 85-86 y uno o más de los nucleótidos 91-92 de la región de horquilla 1 acortada. En algunas modalidades, se eliminan los nucleótidos 86 y 91 de la región de horquilla 1 acortada. En algunas modalidades, se eliminan los nucleótidos 85 y 92 de la región de horquilla 1 acortada. En algunas modalidades, uno o más de los nucleótidos 82-95 de la región de horquilla 1 acortada se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500. En algunas modalidades, uno o más de los nucleótidos 87-91 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00344] En algunas modalidades, la región de horquilla 1 acortada no se encuentra sustituida. En algunas modalidades, la región de horquilla 1 acortada carece de 6-15 nucleótidos modificados.

C. Región de horquilla 2 acortada

[00345] En algunas modalidades, una parte conservada de un ARNg descrito en la presente comprende una región conservada que comprende una región de horquilla 2 acortada. En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada comprende una estructura de horquilla entre una primera parte y una segunda parte de la región de horquilla 2, en donde la primera parte y la segunda parte forman, en conjunto, una parte de dúplex.

[00346] En algunas modalidades, (c) una región de horquilla 2 acortada, donde la horquilla 2 acortada carece de 2-16 nucleótidos. En algunas modalidades, (i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 113-121 y 126-134 y, opcionalmente, uno o más de los nucleótidos 113-134 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500; y (ii) nucleótido 112 se enlaza al nucleótido 135 en al menos 4 nucleótidos.

[00347] En algunas modalidades, una región conservada de un ARNg descrito en la presente comprende una región de tallo superior acortada de la región de horquilla 2. En algunas modalidades, la horquilla 1 comprende un bucle (por ejemplo, un tetrabucle). En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada carece de 2-16 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada tiene una longitud de 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos. En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada tiene una longitud de 28, 29, 30, 31, 32, 33 o 34 nucleótidos. En algunas modalidades, se eliminan uno o más de las posiciones 113-121 y uno o más de los nucleótidos 126-134 de la región de horquilla 2 acortada.

[00348] La región de horquilla 2 acortada comprende una región no emparejada. La región no emparejada, los nucleótidos 106-108 y el nucleótido 139 en la cadena opuesta tienen como resultado una discontinuidad de la parte de dúplex dentro de la horquilla 2, lo que brinda dos partes de dúplex, los nucleótidos 102-105 y 140-143, y nucleótidos 109-112 y 135-138.

[00349] En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada tiene dos partes de dúplex. En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada tiene una parte de dúplex de 4 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud. En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada tiene una parte dúplex de 4-8 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud. En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada tiene una parte de dúplex de 4-6 nucleótidos con emparejamiento de

bases de longitud. En algunas modalidades, el tallo superior de la región de horquilla 2 acortada comprende uno, dos, tres o cuatro pares de bases. En algunas modalidades, se elimina al menos un par de nucleótidos 113 y 134, nucleótidos 114 y 133, nucleótidos 115 y 132, nucleótidos 116 y 131, nucleótidos 117 y 130, nucleótidos 118 y 129, los nucleótidos 119 y 128, los nucleótidos 120 y 127 y los nucleótidos 121 y 126. En algunas modalidades, se eliminan todas las posiciones 113 a 121 y 126 a 134 de la región de horquilla 2 acortada.

[00350] En algunas modalidades, uno o más de los nucleótidos 113 a 134 de la región de horquilla 2 acortada se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500. En algunas modalidades, uno o más de los nucleótidos 122-125 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00351] En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada no se encuentra sustituida. En algunas modalidades, la región de horquilla 2 acortada tiene 6-15 nucleótidos modificados.

D. 3' de cola

[00352] En algunas modalidades, el ARNg comprende una cola 3'. En algunas modalidades, la cola 3' tiene una longitud de 1 a 20 nucleótidos y está unida mediante un enlace fosfodiéster o fosforotioato al extremo 3' de la región conservada de un ARNg. En algunas modalidades, la cola 3' comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleótidos. En algunas modalidades, la cola 3' comprende 1, 2, 3, 4 o 5 nucleótidos. En algunas modalidades, la cola 3' comprende 1 o 2 nucleótidos.

[00353] En algunas modalidades, la cola 3' tiene una longitud de 1-10 nucleótidos, 1-5 nucleótidos, 1-4 nucleótidos, 1-3 nucleótidos y 1-2 nucleótidos. En algunas modalidades, la cola 3' comprende alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleótidos. En algunas modalidades, la cola 3' tiene una longitud de 1 nucleótido. En algunas modalidades, la cola 3' tiene una longitud de 2 nucleótidos. En algunas modalidades, la cola 3' tiene una longitud de 3 nucleótidos. En algunas modalidades, la cola 3' tiene una longitud de 4 nucleótidos. En algunas modalidades, la cola 3' tiene una longitud de 1 a 2 nucleótidos.

[00354] En algunas modalidades, la cola 3' termina con un nucleótido que comprende un uracilo o uracilo modificado. En algunas modalidades, la cola 3' tiene una longitud de 1 nucleótido. En algunas modalidades, la cola 3' consiste en un nucleótido que comprende un uracilo o uracilo modificado. En algunas modalidades, en donde la cola 3' comprende una modificación de uno cualquiera o más de los nucleótidos presentes en la cola 3'. En modalidades adicionales, donde la modificación de la cola 3' es uno o más de nucleótidos modificados con 2'-O-metilo (2'-OMe) y un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00355] En algunas modalidades, la cola 3' está completamente modificada.

[00356] En algunas modalidades, el nucleótido 3' del ARNg es un nucleótido que comprende un uracilo o un uracilo modificado.

[00357] En algunas modalidades, uno o más de los nucleótidos 144 y 145 se encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500. En algunas modalidades, se eliminan ambos nucleótidos 144 y 145 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00358] En algunas modalidades, el ARNg no comprende una cola 3'. En algunas modalidades, el extremo 3' de la guía, que no comprende una cola 3', termina con un nucleótido que comprende un uracilo o uracilo modificado. En algunas modalidades, la cola 3' consiste en un nucleótido que comprende un uracilo o uracilo modificado. En algunas modalidades, el nucleótido terminal 3' es un nucleótido modificado. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' es uno o más de nucleótidos modificados con 2'-O-metilo (2'-OMe) y un enlace fosforotioato (PS) entre el nucleótido terminal y el penúltimo nucleótido.

[00359] En algunas modalidades, el extremo 3', es decir, el extremo de la horquilla 2 sin una cola

adicional o el extremo de la cola 3', comprende o comprende adicionalmente una o más modificaciones, por ejemplo, un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, un nucleótido modificado con 2'-OMe, un nucleótido modificado con 2'-O-moe, un nucleótido modificado con 2'-F, un nucleótido modificado abásico invertido y una combinación de estos. En algunas modalidades, el extremo 3' comprende o comprende adicionalmente una o más modificaciones, por ejemplo, un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, un nucleótido modificado con 2'-OMe, un nucleótido modificado con 2'-F y combinaciones de estos. En algunas modalidades, el extremo 3' comprende un enlace de fosforotioato (PS) entre los nucleótidos 141 y 142, y 142 y 143; un nucleótido modificado con 2'-OMe en cada una de las posiciones 142 y 143.

[00360] En algunas modalidades, el extremo 3', es decir, el extremo de la horquilla 2 sin cola adicional o el extremo de la cola 3', comprende o comprende además uno o más enlaces de fosforotioato (PS) entre nucleótidos. En algunas modalidades, el extremo 3' comprende o comprende también uno o más nucleótidos modificados con 2'-OMe. En algunas modalidades, el extremo 3' comprende o comprende también uno o más nucleótidos modificados con 2'-O-moe. En algunas modalidades, el extremo 3' comprende o comprende también uno o más nucleótidos modificados con 2'-F. En algunas modalidades, el extremo 3' comprende o comprende también uno o más nucleótidos modificados abásicos invertidos. En algunas modalidades, el extremo 3' comprende o comprende también una o más modificaciones de extremo protectoras. En algunas modalidades, el extremo 3' comprende o comprende también una combinación de uno o más enlaces de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, un nucleótido modificado con 2'-OMe, un nucleótido modificado con 2'-O-moe, un nucleótido modificado con 2'-F y un nucleótido modificado abásico invertido.

E. Secuencia guía

[00361] En algunas modalidades, el ARNg también comprende una secuencia guía. En algunas modalidades, la secuencia guía comprende 20, 21, 22, 23, 24 o 25 nucleótidos, opcionalmente 22, 23, 24 o 25 nucleótidos desde 5' hasta el nucleótido más 5' con respecto a la región de repetición/antirrepetición. En algunas modalidades, la secuencia guía comprende 22, 23, 24, 25 o más nucleótidos. En algunas modalidades, la secuencia guía tiene una longitud de 24 nucleótidos. En algunas modalidades, la secuencia guía tiene una longitud de 23 nucleótidos. En algunas modalidades, la secuencia guía tiene una longitud de 22 nucleótidos. En algunas modalidades, la secuencia guía tiene una longitud de 21 nucleótidos. En algunas modalidades, la secuencia guía tiene una longitud de 20 nucleótidos.

[00362] En algunas modalidades, la región guía tiene (i) una inserción de un nucleótido o una eliminación de 1-4 nucleótidos entre las posiciones 1-24 con respecto a la SEQ ID NO: 500, o (ii) una longitud de 24 nucleótidos.

[00363] En algunas modalidades, la selección de la secuencia guía se determina en función de secuencias objetivo dentro del gen de interés para la edición. Por ejemplo, en algunas modalidades, el ARNg comprende una secuencia guía que es complementaria a las secuencias objetivo de un gen de interés.

[00364] En algunas modalidades, la secuencia objetivo en el gen de interés puede ser complementaria a la secuencia guía del ARNg. En algunas modalidades, el grado de complementariedad o identidad entre una secuencia guía de un ARNg y su correspondiente secuencia objetivo en el gen de interés puede ser aproximadamente 90 %, 95 % o 100 %. En algunas modalidades, la región guía de un ARNg y la región objetivo de un gen de interés pueden ser 100 % complementarias o idénticas. En otras modalidades, la secuencia guía de un ARNg y la secuencia objetivo de un gen de interés pueden contener al menos un emparejamiento incorrecto. Por ejemplo, la secuencia guía de un ARNg y la

secuencia objetivo de un gen de interés pueden contener 1, opcionalmente, 2 o 3 mal emparejamientos, donde la longitud total de la secuencia objetivo es al menos aproximadamente 22, 23, 24 o más nucleótidos. En algunas modalidades, la secuencia guía de un ARNg y la región objetivo de un gen de interés pueden contener 1, opcionalmente, 2 o 3 mal emparejamientos donde la secuencia guía comprende alrededor de 24 nucleótidos. En determinadas modalidades, la secuencia guía no contiene emparejamientos incorrectos, es decir, es completamente complementaria con la secuencia objetivo. El extremo 5' puede comprender nucleótidos que no se consideran regiones guía (es decir, no funcionan para dirigir una proteína Cas9 a un ácido nucleico objetivo).

II. ARN guía modificado (ARNg)

[00365] En el presente documento se describen ARN que comprenden modificaciones en diversas posiciones. En algunas modalidades, una posición de un ARNg que comprende una modificación se modifica con uno cualquiera o más de los siguientes tipos de modificaciones. El término "ARNg modificado" generalmente se refiere a un ARNg que tiene una modificación en la estructura química de una o más de las bases, el azúcar, el enlace de fosfodiéster o las partes de la estructura principal, incluidos los fosfatos de nucleótidos, todo como se detalla y ejemplifica en la presente.

[00366] En algunas modalidades, la región guía del ARNg comprende la menos un nucleótido modificado.

[00367] En algunas modalidades, la región guía del ARNg comprende al menos dos nucleótidos modificados, opcionalmente al menos cuatro nucleótidos modificados, en donde cada modificación, independientemente, comprende opcionalmente un nucleótido modificado seleccionado de nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, un nucleótido modificado abásico invertido o combinaciones de estos.

[00368] En algunas modalidades, la región guía del ARNg comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la región guía del ARNg comprende 1, 2 o 3 nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la región guía del ARNg comprende 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la región guía del ARNg comprende 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 nucleótidos modificados.

[00369] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en el extremo 5'. En algunas modalidades, el ARNg comprende adicionalmente una modificación en el extremo 3'.

[00370] En algunas modalidades, la región guía no comprende un nucleótido modificado 3' de los primeros tres nucleótidos de la región guía.

[00371] En algunas modalidades, la región guía no comprende un nucleótido modificado.

[00372] En algunas modalidades, donde el ARNg comprende una modificación de extremo 3'. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en la región de horquilla 1. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en la región de horquilla 2. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en el extremo 3' y comprende una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación de extremo 3', y una modificación en la región de horquilla 1. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación de extremo 3', y una modificación en la región de horquilla 2. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación de extremo 5', y comprende una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación de extremo 5', y una modificación en la región de horquilla 1. En algunas modalidades, el ARNg comprende una

modificación de extremo 5', y una modificación en la región de horquilla 2. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en el extremo 5', una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición, y una modificación en el extremo 3'. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación del extremo 5', una modificación en la región de horquilla 1 y una modificación en el extremo 3'. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en el extremo 5', una modificación en la región de horquilla 1, una modificación en la región de horquilla 2 y una modificación en el extremo 3'. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en el extremo 5', una modificación en la región de repetición/antirrepetición, una modificación en la región de horquilla 1, una modificación en la región de horquilla 2 y una modificación de extremo 3'.

[00373] En algunas modalidades, el ARNg no comprende una modificación en la posición 76. En algunas modalidades, el ARNg no comprende una modificación de PS en la posición 76, es decir, una modificación de PS entre los nucleótidos 76 y 77.

[00374] En algunas modalidades, el ARNg comprende una o más, es decir, 1, 2, 3 o 4 modificaciones en las posiciones 106-109. En algunas modalidades, el ARNg comprende modificaciones en las posiciones 106-109. En algunas modalidades, la modificación comprende un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me)

[00375] En algunas modalidades, la ARNg comprende un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me). En algunas modalidades, el ARNg comprende un nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe). En algunas modalidades, el ARNg comprende un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F). En algunas modalidades, el ARNg comprende un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00376] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en el extremo 5', una modificación con el extremo 3', o una modificación en el extremo 5' y 3', tal como una modificación de extremo protectora. En algunas modalidades, la modificación en el extremo 5' comprende un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos. En algunas modalidades, la modificación en el extremo 5' comprende un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me), 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), o 2'-flúor (2'-F). En algunas modalidades, la modificación en el extremo 5' comprende al menos un enlace de fosforotioato (PS) y uno o más de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me), 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe) o 2'-fluoro (2'-F). La modificación del extremo puede comprender una modificación con fosforotioato (PS), 2'-O-metilo (2'-O-Me), 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe) o 2'-fluoro (2'-F). Las modificaciones de extremos equivalentes también están abarcadas por las modalidades descritas en el presente documento. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación terminal en combinación con una modificación de una o más regiones del ARNg.

[00377] En las Tablas 1-2 se muestran ejemplos de patrones de modificaciones. En determinadas modalidades, los ejemplos de modificaciones incluyen patrones de modificaciones que se muestran en las Tablas 1-2 en las que se eliminan las colas 3', cuando están presentes. A continuación, se analizan ejemplos de patrones adicionales.

Tipos de modificaciones químicas descritas en este documento

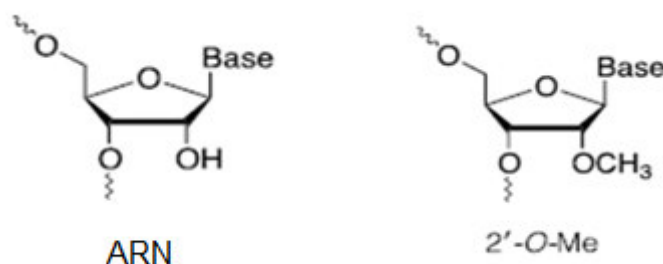
Modificaciones con 2'-O-metilo

[00378] Se cree que los azúcares modificados controlan el fruncimiento de los anillos de azúcar de los nucleótidos, una propiedad física que influye en la afinidad de unión de los oligonucleótidos por las cadenas complementarias, la formación de dúplex y la interacción con las nucleasas. Por tanto, las sustituciones de los anillos de azúcar pueden alterar la conformación y el fruncimiento de estos azúcares. Por ejemplo, las modificaciones con 2'-O-metilo (2'-OMe) pueden aumentar la afinidad de unión y la estabilidad de la nucleasa de los oligonucleótidos, aunque, como se muestra en los ejemplos, el efecto

de cualquier modificación en una posición determinada en un oligonucleótido debe determinarse empíricamente.

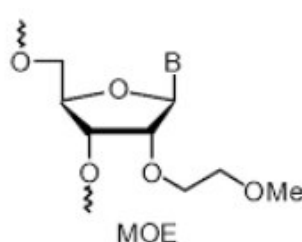
[00379] Los términos "mA", "mC", "mU" o "mG" pueden usarse para indicar un nucleótido que ha sido modificado con 2'-OMe.

- 5 [00380] Un ribonucleótido y un ribonucleótido modificado con 2'-O-metilo se pueden representar de la siguiente manera:



Modificaciones con 2'-O-(2-metoxietilo)

- [00381] En algunas modalidades, la modificación puede ser 2'-O-(2-metoxietilo) (2'-O-moe). Un
10 ribonucleótido con modificación 2'-O-moe se puede representar de la siguiente manera:



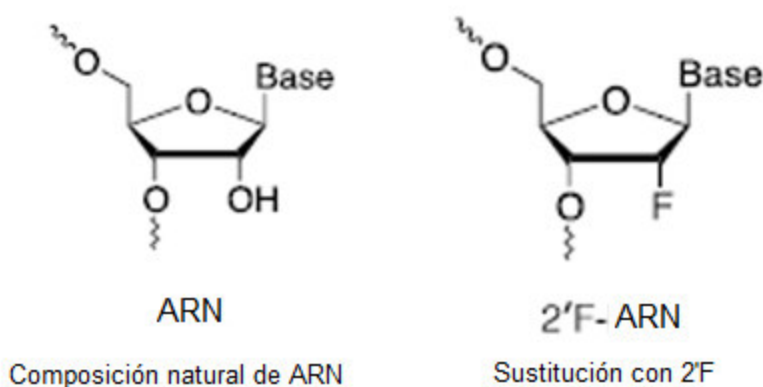
[00382] Es posible utilizar los términos "moeA", "moeC", "moeU" o "moeG" para indicar un nucleótido modificado con 2'-O-moe.

Modificaciones con 2'-fluoro

- 15 [00383] Otra modificación química que se ha demostrado que influye en los anillos de azúcar de nucleótidos es la sustitución de halógeno. Por ejemplo, la sustitución de 2'-fluoro (2'-F) en los anillos de azúcar de nucleótidos puede aumentar la afinidad de unión de oligonucleótidos y la estabilidad de la nucleasa.

- [00384] En esta solicitud, los términos "fA", "fC", "fU" o "fG" se pueden usar para indicar un
20 nucleótido que ha sido sustituido con 2'-F.

[00385] Un ribonucleótido sin y con sustitución 2'-F se puede representar de la siguiente manera:



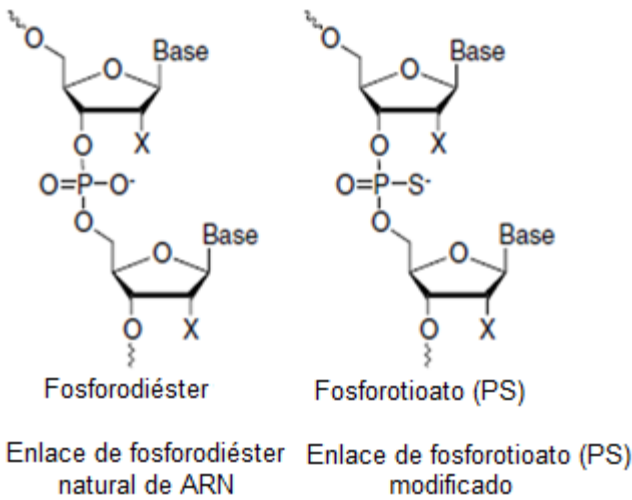
Modificaciones con fosfortioato

- [00386] Un enlace o enlace fosfortioato (PS) se refiere a un enlace donde un azufre se sustituye
25 por un oxígeno fosfato sin puente en un enlace fosfodiéster, por ejemplo, entre nucleótidos. Cuando se usan fosfortioatos para generar oligonucleótidos, los oligonucleótidos modificados también pueden denominarse S-oligos.

[00387] Se puede utilizar un "*" para representar una modificación de PS. En esta solicitud, los términos A*, C*, U* o G* pueden usarse para indicar un nucleótido que está unido al siguiente nucleótido (por ejemplo, 3') con un enlace de PS. A lo largo de la presente solicitud, las modificaciones con PS se agrupan con el nucleótido cuyo carbono 3' se enlaza al fosforotioato; de esta manera, indicar que una modificación de PS se encuentra en la posición 1 significa que el fosforotioato se enlaza al carbono 3' del nucleótido 1 y el carbono 5' del nucleótido 2.

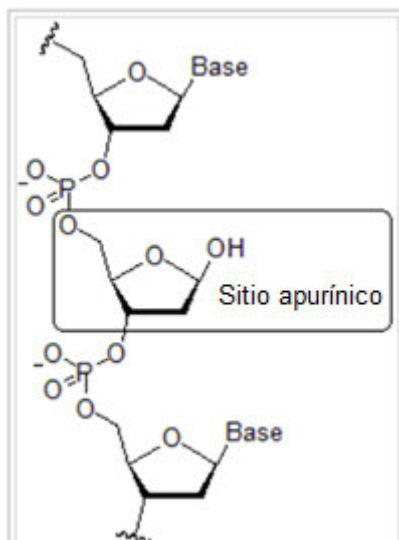
[00388] En la presente solicitud, los términos "mA*", "mC*", "mU*" o "mG*" pueden usarse para indicar un nucleótido que ha sido sustituido con 2'-OMe y que está unido al siguiente (por ejemplo, 3') nucleótido con un enlace de PS, al que a veces se le puede denominar "enlace de PS". De manera similar, los términos "fA*", "fC*", "fU*" o "fG*" pueden usarse para indicar un nucleótido que ha sido sustituido con 2'-F y que está unido al siguiente (por ejemplo, 3') nucleótido con un enlace de PS. Los equivalentes de un enlace o enlace de PS están abarcados por las modalidades descritas en el presente documento.

[00389] El siguiente diagrama muestra la sustitución de S- por un oxígeno de fosfato sin puente, generando un enlace de PS en lugar de un enlace de fosfodiéster:

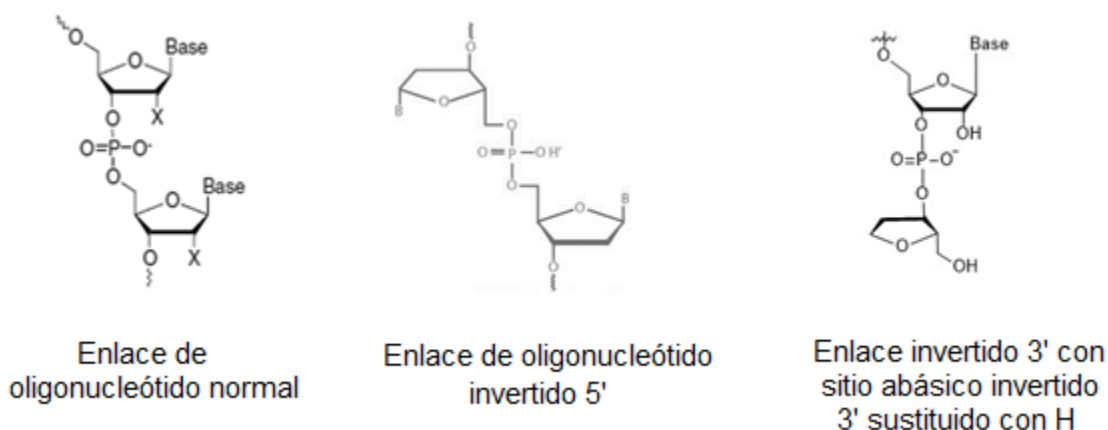


Modificaciones abásicas invertidas

[00390] Los nucleótidos abásicos se refieren a aquellos que carecen de bases nitrogenadas. La siguiente figura representa un oligonucleótido con un sitio abásico (en este caso, mostrado como apurínico; un sitio abásico también podría ser un sitio apirimidínico, donde la descripción del sitio abásico típicamente hace referencia al par de bases de Watson-Crick; por ejemplo, un sitio apurínico se refiere a un sitio que carece de una base nitrogenada y normalmente se emparejaría con un sitio pirimidínico) que carece de una base, en donde la base puede estar sustituida por otro resto en la posición 1' del anillo furano (por ejemplo, un grupo hidroxilo, como se muestra a continuación, para formar un sitio ribosa o desoxirribosa, como se muestra a continuación, o un hidrógeno):



[00391] Las bases invertidas se refieren a aquellas con enlaces que están invertidos con respecto al enlace normal de 5' a 3' (es decir, un enlace de 5' a 5' o un enlace de 3' a 3'). Por ejemplo:



- 5 [00392] Un nucleótido abásico se puede unir con un enlace invertido. Por ejemplo, un nucleótido abásico se puede unir al nucleótido de extremo 5' a través de un enlace 5' a 5', o se puede unir un nucleótido abásico al nucleótido de extremo 3' a través de un enlace 3' a 3'. Un nucleótido abásico invertido en el nucleótido de extremo 5' o 3' también puede denominarse casquete de extremo abásico invertido. En esta solicitud, los términos "inv" indican un enlace de nucleótido abásico invertido.

10 Desoxirribonucleótidos

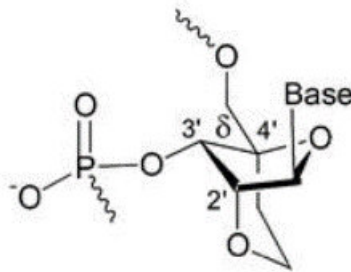
[00393] Un desoxirribonucleótido (en el que el azúcar comprende una posición 2'-desoxi) se considera una modificación en el contexto de un ARNg, en el sentido de que el nucleótido se modifica con respecto al ARN estándar mediante la sustitución de un protón por un hidroxilo en la posición 2'. A menos que se indique lo contrario, una modificación de desoxirribonucleótido en una posición que es U en un ARN no modificado también puede comprender la sustitución de la nucleobase U por una T.

Análogo de ribosa bicíclica

- [00394] Los análogos de ribosa bicíclicos de ejemplo incluyen ácido nucleico bloqueado (LNA), ENA, ácido nucleico puenteado (BNA) u otras modificaciones similares a LNA. En algunos casos, un análogo de ribosa bicíclico tiene las posiciones 2' y 4' conectadas a través de un enlazador. El enlazador puede ser de fórmula $-X-(CH_2)_n$, donde n es 1 o 2; X es O, NR o S; y R es H o alquilo C_{1-3} , por ejemplo, metilo. Los ejemplos de análogos de ribosa bicíclicos incluyen LNA que comprenden una estructura bicíclica 2'-O-CH₂-4' (oxi-LNA) (véanse los documentos WO 98/39352 y WO 99/14226); 2'-NH-CH₂-4' o 2'-N(CH₃)-CH₂-4' (amino-LNA) (Singh et al., *J. Org. Chem.* 63:10035-10039 (1998) Singh et al., *J. Org. Chem.* 63:6078-6079 (1998)); y 2'-S-CH₂-4' (tio-LNA) (Singh et al., *J. Org. Chem.* 63:6078-6079 (1998); Kumar et al., *Biorg. Med. Chem. Lett.* 8:2219-2222 (1998)).

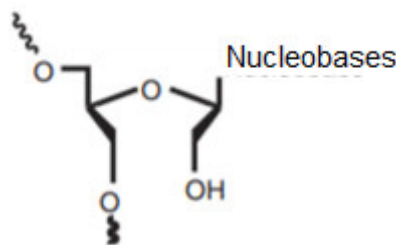
ENA

[00395] Una modificación ENA se refiere a un nucleótido que comprende una modificación de 2'-O,4'-C-etileno. A continuación, se muestra una estructura ejemplar de un nucleótido ENA, en la que las líneas onduladas indican conexiones a los nucleótidos adyacentes (o posiciones terminales, según sea el caso, en el entendido de que, si el nucleótido terminal 3' es un nucleótido ENA, la posición 3' puede comprender un hidroxilo en lugar de un fosfato). Para una discusión más detallada sobre los nucleótidos de ENA, véase, por ejemplo, Koizumi et al., *Nucleic Acids Res.* 31: 3267–3273 (2003).



UNA

[00396] Una UNA o modificación de ácido nucleico desbloqueado se refiere a un nucleótido que comprende una modificación de 2',3'-seco-ARN, en la que los carbonos 2' y 3' no están unidos directamente entre sí. A continuación, se muestra una estructura de ejemplo de un nucleótido UNA, en la que las líneas onduladas indican conexiones con los fosfatos adyacentes o modificaciones que reemplazan a los fosfatos (o posiciones terminales, según sea el caso). Para una discusión más detallada sobre los nucleótidos UNA, véase, por ejemplo, Snead et al., *Molecular Therapy* 2: e103, doi:10.1038/mtna.2013.36 (2013).



Modificaciones básicas

[00397] Una modificación de base es cualquier modificación que altera la estructura de una nucleobase o su enlace a la estructura principal, incluida la isomerización (como en la pseudouridina). En algunas modalidades, una modificación de base incluye inosina. En algunas modalidades, una modificación comprende una modificación de base que reduce la actividad de la ARN endonucleasa, por ejemplo, interfiriendo con el reconocimiento de un sitio de escisión por una RNasa o estabilizando una estructura de ARN (por ejemplo, estructura secundaria) que disminuye la accesibilidad de un sitio de escisión a una RNasa. Las modificaciones de bases de ejemplo que pueden estabilizar las estructuras de ARN son la pseudouridina y la 5-metilcitosina. Véase Peacock et al., *J Org Chem.* 76: 7295–7300 (2011). En algunas modalidades, una modificación de bases puede aumentar o disminuir la temperatura de fusión (T_m) de un ácido nucleico, por ejemplo, aumentando el enlace de hidrógeno en un par de bases de Watson-Crick, formando un par de bases no canónico o creando un par de bases no coincidentes.

[00398] Las modificaciones anteriores y sus equivalentes están incluidas dentro del alcance de las modalidades descritas en el presente documento.

Modificaciones del extremo de 3'

[00399] En algunas modalidades, se modifican los nucleótidos terminales (es decir, últimos) 1, 2, 3, o 4, opcionalmente los nucleótidos 5, 6 o 7 en el extremo 3'. A lo largo de la presente, se puede hacer referencia a esta modificación como una "modificación de extremo 3'". En algunas modalidades, los

nucleótidos terminales (es decir, los últimos) 1, 2, 3 o 4, opcionalmente los nucleótidos 5, 6 o 7 en el extremo 3' comprenden más de una modificación. En algunas modalidades, se modifican al menos uno de los nucleótidos terminales (es decir, últimos) 1, 2, 3 o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 nucleótidos en el extremo 3'. En algunas modalidades, al menos dos de los nucleótidos terminales (es decir, últimos), 1, 2, 3 o 4, opcionalmente los nucleótidos 5, 6 o 7 en la región de extremo 3' están modificados. En algunas modalidades, al menos tres de los nucleótidos terminales (es decir, últimos), 1, 2, 3 o 4, opcionalmente los nucleótidos 5, 6 o 7 en la región de extremo 3' están modificados. En algunas modalidades, la modificación comprende un enlace de PS. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' es una modificación del extremo protector 3'. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende una modificación del extremo protector 3'.

[00400] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me), un nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-flúor (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, o un nucleótido modificado abásico invertido, opcionalmente, donde el ARNg comprende al menos dos modificaciones de extremo 3' independientemente seleccionadas del nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietilo) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-flúor (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) y un nucleótido modificado abásico invertido.

[00401] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende además un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me).

[00402] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende también un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F).

[00403] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende además un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00404] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende adicionalmente un nucleótido modificado abásico invertido.

[00405] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende adicionalmente un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me) y un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00406] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende además una modificación de cualquiera de uno o más de los últimos 1, 2, 3 o 4, opcionalmente los nucleótidos 5, 6 o 7. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende también un nucleótido modificado. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende también dos nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende también tres nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende también cuatro nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende también cinco nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende también seis nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende también siete nucleótidos modificados.

[00407] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende adicionalmente una modificación de 1-7 o 14 nucleótidos.

[00408] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende además modificaciones de 1, 2, 3 o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 nucleótidos en el extremo 3' del ARNg.

[00409] En algunas modalidades, la modificación de extremo 3' comprende o comprende también

las modificaciones de alrededor de 1-3, 1-4 o 1-5 nucleótidos en el extremo 3' del ARNg.

[00410] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende además uno cualquiera o más de los siguientes: un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos, un nucleótido modificado con 2'-O-Me, un nucleótido modificado con 2'-O-moe, un nucleótido modificado con 2'-F, un nucleótido modificado abásico invertido y una combinación de estos.

[00411] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende además 1, 2, 3 o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 enlaces de PS entre nucleótidos.

[00412] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende también al menos un nucleótido modificado con 2'-F, 2'-O-Me, 2'-O-moe o abásico invertido. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende además un enlace de PS, en donde el enlace está entre el último y el penúltimo nucleótido. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende además dos enlaces PS entre los últimos tres nucleótidos. En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende también cuatro enlaces de PS entre los últimos cuatro nucleótidos.

[00413] En algunas modalidades, la modificación de extremo 3' comprende o comprende también enlaces de PS entre cualesquiera uno o más de los últimos cuatro nucleótidos. En algunas modalidades, la modificación de extremo 3' comprende o comprende también enlaces de PS entre cualesquiera uno o más de los últimos tres nucleótidos. En algunas modalidades, la modificación de extremo 3' comprende o comprende también enlaces de PS entre uno o más de los últimos 2, 3, o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 nucleótidos.

[00414] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende además una modificación de uno o más de los últimos 1-4, opcionalmente 1-7 nucleótidos, en donde la modificación es un enlace de PS, nucleótido abásico invertido, 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, o combinaciones de estos.

[00415] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende además una modificación del último nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estos, y opcionalmente uno o dos enlaces de PS al siguiente nucleótido o el primer nucleótido del extremo 3'.

[00416] En algunas modalidades, la modificación del extremo 3' comprende o comprende además una modificación del último o penúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, o combinaciones de estos, y opcionalmente uno o más enlaces de PS.

[00417] En algunas modalidades, la modificación de extremo 3' comprende o comprende también una modificación del último, penúltimo o antepenúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estos, y opcionalmente uno o más enlaces de PS.

[00418] En algunas modalidades, la modificación de extremo 3' comprende o comprende también una modificación del último, penúltimo, antepenúltimo o anterior al antepenúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estos, y opcionalmente uno o más enlaces de PS.

[00419] En algunas modalidades, la modificación de extremo 3' comprende o comprende también una modificación del último, penúltimo, antepenúltimo, anterior al antepenúltimo o quinto al último nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estos, y opcionalmente uno o más enlaces de PS.

[00420] En algunas modalidades, el ARNg que comprende una modificación del extremo 3' comprende o comprende además una cola 3', en donde la cola 3' comprende una modificación de uno cualquiera o más de los nucleótidos presentes en la cola 3'. En algunas modalidades, la cola 3' está completamente modificada. En algunas modalidades, la cola 3' comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 1-7, 1-8, 1-9 o 1-10 nucleótidos, opcionalmente donde uno o más de estos

nucleótidos están modificados. En algunas modalidades, la cola 3' comprende 1-4 nucleótidos, opcionalmente 1-2 nucleótidos.

[00421] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación en el extremo 3', en donde la modificación del extremo 3' comprende la modificación del extremo 3' como se muestra en cualquiera de las SEQ ID NO: En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación del extremo 5', en donde la modificación del extremo 5' comprende una modificación del extremo 5' como se muestra en cualquiera de las SEQ ID NO: 4-9 y 301-494. En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación del extremo protector 3'.

[00422] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en el extremo 5' y una modificación en el extremo 3'.

Modificaciones en el extremo 5'

[00423] En algunas modalidades, el extremo 5' está modificado, por ejemplo, los primeros 1, 2, 3 o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 nucleótidos del ARNg se encuentran modificados. A lo largo de la presente, se puede hacer referencia a esta modificación como una "modificación de extremo 5'". En algunas modalidades, los primeros 1, 2, 3 o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 nucleótidos del extremo 5' comprenden más de una modificación. En algunas modalidades, al menos uno de 1, 2, 3 o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 nucleótidos de extremo (es decir, primeros) en el extremo 5' se encuentran modificados. En algunas modalidades, al menos dos de los 1, 2, 3 o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 nucleótidos de extremo en el extremo 5' se encuentran modificados. En algunas modalidades, al menos tres de los 1, 2, 3 o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 nucleótidos terminales en la región de extremo 5' se encuentran modificados. En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' es una modificación de extremo protector 5'.

[00424] En algunas modalidades, se modifican ambas regiones terminales 5' y 3' del ARNg. En algunas modalidades, solo se modifica la región de extremo 5' del ARNg. En algunas modalidades, solo se modifica el extremo 3' de la región conservada de un ARNg.

[00425] En algunas modalidades, el ARNg comprende modificaciones en 1, 2, 3 o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 de los primeros 4 nucleótidos, opcionalmente los primeros 7 nucleótidos en una región de extremo 5' del ARNg. En algunas modalidades, el ARNg comprende las modificaciones en 1, 2, 3 o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 de los 4 nucleótidos de extremo, opcionalmente 7 nucleótidos de extremo en un extremo 3'. En algunas modalidades, se modifican 1, 2, 3 o 4 de los primeros 4 nucleótidos en el extremo 5', o 1, 2, 3 o 4 de los 4 nucleótidos en el extremo 3'. En algunas modalidades, 2, 3 o 4 de los primeros 4 nucleótidos en el extremo 5' se enlazan con enlaces de fosforotioato (PS).

[00426] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' o del extremo 3' comprende una modificación con 2'-O-metilo (2'-O-Me) o 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe). En algunas modalidades, la modificación comprende una modificación con 2'-fluoro (2'-F) de un nucleótido. En algunas modalidades, la modificación comprende un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos. En algunas modalidades, la modificación comprende un nucleótido abásico invertido. En algunas modalidades, la modificación comprende una modificación de extremo protectora. En algunas modalidades, la modificación comprende más de una modificación seleccionada entre modificación del extremo protector, 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-fluoro (2'-F), un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos y un nucleótido abásico invertido. En algunas modalidades, se abarca una modificación equivalente.

[00427] En algunas modalidades, el ARNg comprende uno o más enlaces fosforotioato (PS) entre los primeros uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete nucleótidos en el extremo 5'. En algunas modalidades, el ARNg comprende uno o más enlaces de PS entre los últimos uno, dos, tres o cuatro, opcionalmente cinco, seis o siete nucleótidos en el extremo 3'. En algunas modalidades, el ARNg comprende uno o más enlaces de PS entre los últimos uno, dos, tres o cuatro, opcionalmente cinco, seis

o siete nucleótidos en el extremo 3' y los primeros uno, dos, tres o cuatro, opcionalmente cinco, seis o siete nucleótidos del extremo 5' del extremo 5'. En algunas modalidades, además de los enlaces de PS, los nucleótidos terminales 5' y 3' pueden comprender nucleótidos modificados con 2'-O-Me, 2'-O-moe o 2'-F.

5 [00428] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación del extremo 5', por ejemplo, en donde se modifica el primer nucleótido de la región guía. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación del extremo 5', en donde el primer nucleótido de la región guía comprende una modificación del extremo protector 5'.

[00429] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende un nucleótido
10 modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me), nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, un nucleótido modificado abásico invertido, opcionalmente donde el ARNg comprende al menos dos modificados del extremo 5' independientemente seleccionados de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-
15 moe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos y un nucleótido modificado abásico invertido..

[00430] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me).

[00431] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además
20 un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F).

[00432] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00433] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además un nucleótido modificado abásico invertido.

25 [00434] En algunas modalidades, la modificación en el extremo 5' comprende o comprende además un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me) y un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00435] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende también una modificación de cualesquiera uno o más de los nucleótidos 1-4, opcionalmente 1-7 de la región guía
30 de un ARNg. En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además un nucleótido modificado. En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además dos nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además tres nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además cuatro nucleótidos modificados. En
35 algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además cinco nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además seis nucleótidos modificados. En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además siete nucleótidos modificados.

[00436] En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende además
40 una modificación de 1-7, 1-5, 1-4, 1-3 o 1-2 nucleótidos.

[00437] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además las modificaciones de 1, 2, 3 o 4, opcionalmente 5, 6 o 7 nucleótidos del extremo 5'. En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende además las modificaciones de alrededor de 1-3, 1-4, 1-5, 1-6 o 1-7 nucleótidos del extremo 5'.

45 [00438] En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende además

las modificaciones en el primer nucleótido en el extremo 5' del ARNg. En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende además las modificaciones en el primer y el segundo nucleótidos del extremo 5' del ARNg. En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también las modificaciones en el primer, segundo y tercer nucleótidos del extremo 5' del ARNg. En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también las modificaciones en el primer, segundo, tercer y cuarto nucleótidos del extremo 5' del ARNg. En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también las modificaciones en el primer, segundo, tercer, cuarto y quinto nucleótidos del extremo 5' del ARNg. En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también las modificaciones en el primer, segundo, tercer, cuarto, quinto y sexto nucleótidos del extremo 5' del ARNg. En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también las modificaciones en el primer, segundo, tercer, cuarto, quinto, sexto y séptimo nucleótidos del extremo 5' del ARNg.

[00439] En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos, o un nucleótido modificado con 2'-O-Me, o un nucleótido modificado con 2'-O-moe, o un nucleótido modificado con 2'-F, o un nucleótido modificado abásico invertido o combinaciones de estos.

[00440] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende también 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 enlaces de PS entre nucleótidos. En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también alrededor de 1-2, 1-3, 1-4, 1- 5, 1- 6 o 1- 7 enlaces de PS entre nucleótidos.

[00441] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende también al menos un enlace de PS, en donde si hay un enlace de PS, el enlace está entre los nucleótidos 1 y 2 de la región guía.

[00442] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende también al menos dos enlaces de PS, y los enlaces están entre los nucleótidos 1 y 2, y 2 y 3 de la región guía.

[00443] En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también enlaces de PS entre cualesquiera uno o más de los nucleótidos 1 y 2, 2 y 3, y 3 y 4 de la región guía.

[00444] En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también enlaces de PS entre cualesquiera uno o más de los nucleótidos 1 y 2, 2 y 3, 3 y 4, y 4 y 5 de la región guía.

[00445] En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también enlaces de PS entre cualesquiera uno o más de los nucleótidos 1 y 2, 2 y 3, 3 y 4, 4 y 5, y 5 y 6 de la región guía.

[00446] En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también enlaces de PS entre cualesquiera uno o más de los nucleótidos 1 y 2, 2 y 3, 3 y 4, 4 y 5, 5 y 6, y 7 y 8 de la región guía.

[00447] En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también una modificación de uno o más de los nucleótidos 1 a 7 de la región guía, en donde la modificación es un enlace de PS, un nucleótido abásico invertido, 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estas.

[00448] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además una modificación del primer nucleótido de la región guía con 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estas, y un enlace de PS opcional al siguiente nucleótido.

[00449] En algunas modalidades, la modificación del extremo 5' comprende o comprende además una modificación del primer o segundo nucleótido de la región guía con 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estas, y opcionalmente uno o más enlaces de PS entre el primer y segundo nucleótido

o entre el segundo y tercer nucleótido.

[00450] En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también una modificación al primer, segundo o tercer nucleótido de la región variable con 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estas, y opcionalmente uno o más enlaces de PS entre el primer y el segundo
5 nucleótido, entre el segundo y el tercer nucleótido, o entre el tercer y el cuarto nucleótido.

[00451] En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también una modificación al primer, segundo, tercer o cuarto nucleótido de la región variable con 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estos, y opcionalmente uno o más enlaces de PS entre el primer y el
10 segundo nucleótido, entre el segundo y el tercer nucleótido, entre el tercer y el cuarto nucleótido, o entre el cuarto y el quinto nucleótido.

[00452] En algunas modalidades, la modificación de extremo 5' comprende o comprende también una modificación al primer, segundo, tercer, cuarto o quinto nucleótido de la región variable con 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estos, y opcionalmente uno o más enlaces de PS entre el primer y el segundo nucleótido, entre el segundo y el tercer nucleótido, entre el tercer y el cuarto nucleótido,
15 entre el cuarto y el quinto nucleótido, o entre el quinto y el sexto nucleótido.

[00453] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación del extremo 5', donde la modificación del extremo 5' comprende una modificación del extremo 5' como se muestra en cualquiera de las SEQ ID NO: 4-9 y 301-494, 931-946.

[00454] En algunas modalidades, el ARNgu comprende una modificación del extremo 5' que comprende una modificación de extremo protector 5'. En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación en el extremo 5', donde la modificación en el extremo 5' comprende
20 nucleótidos modificados con 2'-OMe en nucleótidos los 1, 2 y 3 de la región guía.

[00455] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación en el extremo 5', en donde la modificación en el extremo 5' comprende nucleótidos modificados con 2'-OMe en los nucleótidos 1, 2 y 3 de la región guía y enlaces de PS entre los nucleótidos 1 y 2, 2 y 3, y 3 y 4
25 de la región guía.

[00456] En algunas modalidades, se proporciona el ARNg que comprende una modificación en el extremo 5', donde la modificación en el extremo 5' comprende nucleótidos modificados con 2'-OMe en los nucleótidos 1, 2, 3, 4 y 5 de la región guía.

[00457] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación en el extremo 5', donde la modificación en el extremo 5' comprende nucleótidos modificados con 2'-OMe en los nucleótidos 1, 2, 3, 4 y 5 de la región guía y enlaces de PS entre los nucleótidos 1 y 2, 2 y 3, y 3 y 4 de la región guía.
30

[00458] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación en el extremo 5' y una modificación en el extremo 3'. En algunas modalidades, el ARNg comprende nucleótidos modificados en los extremos 5' y 3', y nucleótidos modificados en una o más regiones descritas en la Tabla 3.
35

[00459] En algunas modalidades, el ARNgu comprende nucleótidos modificados que no están en los extremos 5' o 3'. A continuación, y en la Tabla 1, se describen ejemplos de patrones de modificaciones.
40

Modificaciones de la región de repetición/antirrepetición

[00460] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación de la región de repetición/antirrepetición, donde la modificación de la región de repetición/antirrepetición comprende una modificación a cualquiera de uno o más de los nucleótidos 25-76 en la región de tallo superior.
45

[00461] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación de la región de repetición/antirrepetición, donde la modificación del tallo superior comprende una modificación de al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 o 18 nucleótidos en la región de repetición/antirrepetición.

5 [00462] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación del tallo superior, donde la modificación del tallo superior comprende una modificación de alrededor de 1-18, 1-16, 1-15, 5-18, 5-15, 8-18, 8-15, 10-18, 10-15 o 12-15 nucleótidos en la región de repetición/antirrepetición.

[00463] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación de la región de repetición/antirrepetición, en donde la modificación de la región de repetición/antirrepetición comprende un nucleótido modificado con 2'-OMe. En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación de la región de repetición/antirrepetición, en donde la modificación de la región de repetición/antirrepetición comprende un nucleótido modificado con 2'-O-moe. En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación de la región de repetición/antirrepetición, en donde la modificación de la región de repetición/antirrepetición comprende un nucleótido modificado con 2'-F.

10

15

[00464] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende una modificación de la región de repetición/antirrepetición, en donde la modificación de la región de repetición/antirrepetición comprende un nucleótido modificado con 2'-OMe, un nucleótido modificado con 2'-O-moe, un nucleótido modificado con 2'-F o combinaciones de estos.

20

[00465] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación de repetición/antirrepetición como se muestra en cualquiera de las secuencias en la Tabla 1 o 2. En algunas modalidades, el ARNg no comprende una modificación en la posición 76 en la región de repetición/antirrepetición. En algunas modalidades, el ARNg no comprende una modificación con PS en la posición 76.

25

[00466] En algunas modalidades, dicha modificación de repetición/antirrepetición se combina con una modificación del extremo protector 5', por ejemplo, como se muestra para la secuencia correspondiente en la Tabla 1 o 2. En algunas modalidades, dicha modificación de repetición/antirrepetición se combina con una modificación del extremo protector 3', por ejemplo, como se muestra para la secuencia correspondiente en la Tabla 1 o 2. En algunas modalidades, dicha modificación de repetición/antirrepetición se combina con modificaciones de los extremos 5' y 3' como se muestra para la secuencia correspondiente en la Tabla 1 o 2.

30

[00467] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación del extremo 5' y una modificación de repetición/antirrepetición. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación del extremo 3' y una modificación de la región de repetición/antirrepetición. En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación del extremo 5', una modificación del extremo 3' y una modificación de repetición/antirrepetición.

35

Modificaciones de horquilla

[00468] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en la región de horquilla (por ejemplo, región de horquilla 1 o región de horquilla 2). En algunas modalidades, la modificación de la región de horquilla comprende al menos un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F) o combinaciones de estos.

40

[00469] En algunas modalidades, la modificación de la región de horquilla está en la región de horquilla 1. En algunas modalidades, la modificación de la región de horquilla está en la región de

45

horquilla 2. En algunas modalidades, las modificaciones están dentro de las regiones de horquilla 1 y horquilla 2, opcionalmente, donde se modifica un nucleótido entre la horquilla 1 y la horquilla 2.

[00470] En algunas modalidades, la modificación de horquilla comprende o comprende también un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe).

5 [00471] En algunas modalidades, la modificación de horquilla comprende o comprende también un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F).

[00472] En algunas modalidades, la modificación de la región de horquilla comprende al menos un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'H (ADN), un nucleótido modificado con PS, un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F) o combinaciones de estos.

10 [00473] En algunas modalidades, el ARNg comprende una o más, es decir, 1, 2, 3 o 4 modificaciones en las posiciones 106-109 en la región de horquilla 2. En algunas modalidades, el ARNg comprende modificaciones en las posiciones 106-109. En algunas modalidades, la modificación comprende un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-O-Me).

15 [00474] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación del extremo 3' y una modificación en la región de horquilla. En algunas modalidades, la modificación en el extremo 3' se encuentra dentro de la región de horquilla, es decir, en la horquilla 2.

[00475] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación del extremo 5' y una modificación en la región de horquilla.

20 [00476] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación de repetición/antirrepetición, y una modificación en la región de horquilla.

[00477] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación en horquilla como se muestra en cualquiera de las secuencias de la Tabla 1 o 2. En algunas modalidades, dicha modificación en horquilla se combina con una modificación en el extremo 5' como se muestra para la secuencia correspondiente en la Tabla 1 o 2. En algunas modalidades, dicha modificación en horquilla se combina con una modificación del extremo 3' como se muestra para la secuencia correspondiente en la Tabla 1 o 2. En algunas modalidades, dicha modificación en horquilla se combina con modificaciones en los extremos 5' y 3' como se muestra para la secuencia correspondiente en la Tabla 1 o 2.

25 [00478] En algunas modalidades, el ARNg comprende una modificación del extremo 3', una modificación en la región de horquilla, una modificación de repetición/antirrepetición y una modificación del extremo 5'.

EJEMPLOS DE ARN GUÍA

[00479] En algunas modalidades, un ARNg que comprende una modificación del extremo 5' y una o más modificaciones en uno o más de: la región de repetición/antirrepetición; la región de la horquilla 1; y se proporciona la región de horquilla 2, donde la una o más modificaciones tienen al menos un 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 o 70 % de identidad con respecto al patrón de modificación mostrado en el identificador de la secuencia de referencia en las Tablas 1-2.

35 [00480] En algunas modalidades, los ARNg descritos en el presente documento comprenden cualquiera de las secuencias que se muestran en las Tablas 1-2. En algunas modalidades, los ARNg descritos en el presente documento consisten en cualquiera de las secuencias que se muestran en las Tablas 1-2. En algunas modalidades, los ARNg descritos en el presente documento consisten en cualquiera de las secuencias que se muestran en las Tablas 1-2 con cualquier secuencia de cola 3' eliminada. Además, se incluyen los ARNg que comprenden las modificaciones de cualquiera de las secuencias mostradas en la Tabla 1 o 2, y que se identifican en estas mediante SEQ ID NO. Es decir, 40 los nucleótidos pueden ser iguales o diferentes, pero el patrón de modificación mostrado puede ser igual

o similar a un patrón de modificación de una secuencia guía de las Tablas 1-2. Un patrón de modificación incluye la posición relativa y la identidad de las modificaciones del ARNg.

[00481] En algunas modalidades, el patrón de modificación contiene al menos el 50 %, 55 %, 60 %, 70 %, 75 %, preferentemente al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de las modificaciones de cualquiera de las secuencias mostradas en la columna de secuencia de las Tablas 1-2, o sobre una o más regiones de la secuencia. En algunas modalidades, el patrón de modificación es al menos el 50 %, 55 %, 60 %, 70 %, 75 %, preferentemente al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99% idéntico al patrón de modificación de cualquiera de las secuencias mostradas en la columna de secuencia de las Tablas 1-2. En algunas modalidades, el patrón de modificación es al menos el 50 %, 55 %, 60 %, 70 %, 75 %, preferentemente al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % idéntico a los patrones en las Tablas 1-2 anteriores una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) regiones de la secuencia mostrada en la Tabla 3.

[00482] Por ejemplo, en algunas modalidades, se incluye un ARNg donde el patrón de modificación es al menos el 50 %, 55 %, 60 %, 70 %, 75 %, preferentemente al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % idéntico al patrón de modificación de una secuencia con respecto a la secuencia guía. En algunas modalidades, se incluye un ARNg donde el patrón de modificación es al menos el 50 %, 55 %, 60 %, 70 %, 75 %, preferentemente al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % idéntico con respecto a la región de repetición/antirrepetición. Por ejemplo, se incluye un ARNg donde el patrón de modificación es al menos el 50 %, 55 %, 60 %, 70 %, 75 %, preferentemente al menos el 80 %, 85 %, 90 % o 95 % idéntica con respecto a la región de horquilla 1. En algunas modalidades, un ARNg se encuentra comprendido donde el patrón modificado es al menos un 50 %, 55 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, preferentemente al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % y 99 % idéntica sobre la región de horquilla 2.. En algunas modalidades, se incluye un ARNg donde el patrón de modificación es al menos el 50 %, 55 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 % idéntico con respecto a la cola 3'. En algunas modalidades, el patrón de modificación difiere del patrón de modificación de una secuencia de las Tablas 1-2, o una región como se establece en la Tabla 3, de dicha secuencia, en 0, 1, 2, 3, 4, 5, , o 6 nucleótidos. En algunas modalidades, el ARNg comprende modificaciones que difieren de las modificaciones de una secuencia de las Tablas 1-2, en 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 nucleótidos. En algunas modalidades, el ARNg comprende modificaciones que difieren de las modificaciones de una región establecida en la Tabla 3 de una secuencia de Tablas 1-2, en 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 nucleótidos.

[00483] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende cualquiera de las secuencias descritas en las SEQ ID NO: 1-19, 21-42, 301-494, 931-946, 951 y 952. En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que consiste en cualquiera de las secuencias descritas en las SEQ ID NO: 1-19, 21-42, 301-494, 931-946, 951 y 952. En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que compromete cualquiera de las secuencias descritas en las SEQ ID NO: 1-19, 21-42, 301-494, 931-946, 951 y 952, incluidas las modificaciones mostradas en las Tablas 1- 2. En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que consiste en cualquiera de las secuencias descritas en las SEQ ID NO: 1-19, 21-42, 301-494, 931-946, 951 y 952, incluidas las modificaciones mostradas en las Tablas 1- 2. En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende o consiste en cualquiera de las secuencias descritas en las SEQ ID NO: 1-19, 21-42, 301-494, 931-946, 951 y 952 que incluye las modificaciones mostradas en las Tablas 1-2, donde, cuando se encuentra presente, se elimina la cola 3'.

[00484] En algunas modalidades, se proporciona un ARNg que comprende cualquiera de las secuencias de la SEQ ID NO: 6 o 9, donde el ARNg comprende además una secuencia guía que es complementaria a una secuencia objetivo y dirige una Cas9 a su objetivo para la escisión. En algunas

realizaciones, se proporciona un ARNg que comprende ácidos nucleicos que tienen al menos un 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 o 70 % de identidad con los ácidos nucleicos de cualquier de la SEQ ID NO: 6 o 9, en donde el patrón de modificación es idéntico al patrón de modificación mostrado en el identificador de secuencia de referencia en las Tablas 1-2.

- 5 [00485] Las FIGS. 25, 37 y 38 muestran ejemplos de ARNgu en posibles estructuras secundarias.
 [00486] En algunas modalidades, un ARN guía único (ARNgu) comprende:
 una secuencia guía que comprende:
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;
 enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y
- 10 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la secuencia guía;
 una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38-48 y 53-63 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 49-52, 64, 65, 69, 70 y 73;
- 15 un enlace de PS entre los nucleótidos 76-77 entre la región de repetición/antirrepetición acortada y la región de horquilla 1 acortada;
 una región de horquilla 1 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;
- 20 nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;
 una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 110, 111, 122-125, 142 y 143,
- 25 enlaces de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,
 en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 en comparación con la SEQ ID NO: 500.
- [00487] En algunas modalidades, se proporciona un ARN guía único (ARNgu), que comprende:
 una región guía que comprende:
- 30 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;
 enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la región guía;
 una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38-48 y 53-63 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
- 35 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 49-52, 64, 65, 69, 70 y 73;
 un enlace de PS entre los nucleótidos 76-77 entre la región de repetición/antirrepetición acortada y la región de horquilla 1 acortada;
 una región de horquilla 1 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 con respecto a la SEQ ID
- 40 NO: 500, que comprende:
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;
 nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;
 una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-134 con respecto
- 45 a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 110, 111, 122-125, 142 y 143,
 enlace de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,
 en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID
 NO: 500.

- 5 [00488] En algunas modalidades, se proporciona un ARN guía único (ARNgu) que comprende:
 una región guía que comprende:
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;
 enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la región guía;
- 10 una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38-47 y 54-63 están eliminados
 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 48, 49-52, 64, 65, 69, 70
 y 73;
 un enlace de PS entre los nucleótidos 76-77 entre la región de repetición/anti-repetición acortada y la
- 15 región de horquilla 1 acortada;
 una región de horquilla 1 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 con respecto a la SEQ ID
 NO: 500, que comprende:
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;
 nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región
- 20 de horquilla 2 acortada;
 una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-134 con respecto
 a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 110, 111, 122-125, 142 y 143,
 enlace de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,
- 25 en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 en comparación con la
 SEQ ID NO: 500.
- [00489] En algunas modalidades, un ARN guía único (ARNgu) comprende:
 una región guía que comprende:
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros dos nucleótidos 1-2;
- 30 enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2; y
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 10 y 13 de la región guía;
 una región de repetición/antirrepetición acortada que comprende:
 los nucleótidos 38-48 y 53-63 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500;
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 49-52, 64, 65, 69, 70, 73;
- 35 un enlace de PS entre los nucleótidos 76-77 entre la región de repetición/anti-repetición acortada y la
 región de horquilla 1 acortada;
 una región de horquilla 1 acortada que comprende:
 los nucleótidos 86 y 91 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500;
 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;
- 40 nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región
 de horquilla 2 acortada;
 una región de horquilla 2 acortada que comprende:
 los nucleótidos 112-120 y 127-134 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500;
- 45 Nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 102-105, 110, 111, 122-125, 135, 136, 138,
 139, 141-143,

enlaces de PS entre los nucleótidos 140-141, 141-142 y 142-143,
en donde el ARN_{gu} no comprende una cola 3'.

[00490] En algunas modalidades, un ARN guía único (ARN_{gu}) comprende:

una secuencia guía que comprende:

- 5 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;
enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la secuencia guía;
una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38-48 y 53-63 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
- 10 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 49-52, 64, 65, 69, 70 y 73;
un enlace de PS entre los nucleótidos 76-77 entre la región de repetición/anti-repetición acortada y la región de horquilla 1 acortada;
una región de horquilla 1 acortada, donde los nucleótidos 86 y 91 están eliminados con respecto a la
- 15 SEQ ID NO: 500, que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;
nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;
una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-135 con respecto
- 20 a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 110, 111, 122-125, 142 y 143,
enlaces de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,
en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 en comparación con la SEQ ID NO: 500.
- 25 [00491] En algunas modalidades, se proporciona un ARN guía único (ARN_{gu}), que comprende:
una región guía que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;
enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la región guía;
- 30 una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38-48 y 53-63 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 49-52, 64, 65, 69, 70 y 73;
un enlace de PS entre los nucleótidos 76-77 entre la región de repetición/antirrepetición acortada y la
- 35 región de horquilla 1 acortada;
una región de horquilla 1 acortada, donde los nucleótidos 86 y 91 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;
nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región
- 40 de horquilla 2 acortada;
una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-135 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 110, 111, 122-125, 142 y 143,
enlace de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,
- 45 en donde se eliminan uno de los nucleótidos 144-145 o ambos opcionalmente en comparación con la

SEQ ID NO: 500.

[00492] En algunas modalidades, se proporciona un ARN guía único (ARNgu), que comprende: una región guía que comprende:

nucleótidos modificados 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;

5 enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la región guía;

una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38-47 y 54-63 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

10 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 48, 49-52, 64, 65, 69, 70 y 73;

un enlace de PS entre los nucleótidos 76-77 entre la región de repetición/antirrepetición acortada y la región de horquilla 1 acortada;

una región de horquilla 1 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

15 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;

nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;

una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-135 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

20 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 110, 111, 122-125, 142 y 143,

enlace de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,

en donde se eliminan uno de los nucleótidos 144-145 o ambos opcionalmente en comparación con la SEQ ID NO: 500.

[00493] En algunas modalidades, un ARN guía único (ARNgu) comprende:

25 una región guía que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros dos nucleótidos 1-2;

enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2; y

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 10 y 13 de la región guía;

una región de repetición/antirrepetición acortada que comprende:

30 los nucleótidos 38-48 y 53-63 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500;

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 49-52, 64, 65, 69, 70, 73;

un enlace de PS entre los nucleótidos 76-77 entre la región de repetición/antirrepetición acortada y la región de horquilla 1 acortada;

una región de horquilla 1 acortada que comprende:

35 los nucleótidos 86 y 91 se encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500;

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;

nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;

una región de horquilla 2 acortada que comprende:

40 los nucleótidos 112-120 y 127-135 se encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500;

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 102-105, 110, 111, 122-125, 135, 136, 138, 139, 141-143,

enlaces de PS entre los nucleótidos 140-141, 141-142 y 142-143,

en donde el ARNgu no comprende una cola 3'.

45 [00494] En algunas modalidades, un ARN guía único (ARNgu) comprende:

una secuencia guía que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;

enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18, y 22 de la secuencia guía;

5 una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38, 41-48 y 53-60, y 63 se encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 39-40, 49-52, 61-62, 64, 65, 69, 70, y 73;

10 un enlace de PS entre los nucleótidos 76-77 entre la región de repetición/antirrepetición acortada y la región de horquilla 1 acortada;

una región de horquilla 1 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94, y 99;

15 nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;

una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-135 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 110, 111, 122-125, 142 y 143,

enlaces de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,

20 en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00495] En algunas modalidades, un ARN guía único (ARNgu) comprende:

una secuencia guía que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;

25 enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la secuencia guía;

una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38-48 y 53-63 se encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

30 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 49-52, 64, 65, 69, 70, y 73;

una región de horquilla 1 acortada, donde los nucleótidos 86 y 91 se encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94, y 99;

35 nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;

una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-135 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 110, 111, 122-125, 142 y 143,

enlaces de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,

40 en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00496] En algunas modalidades, un ARN guía único (ARNgu) comprende:

una secuencia guía que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;

45 enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la secuencia guía;
una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38-48 y 53-63 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 49-52, 64, 65, 69, 70 y 73;

un enlace de PS entre los nucleótidos 76-77 entre la región de repetición/antirrepetición acortada y la región de horquilla 1 acortada;

una región de horquilla 1 acortada, donde los nucleótidos 86 y 91 se encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;

nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;

una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-135 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 106-109, 110, 111, 122-125, 142 y 143,

enlaces de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,

en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00497] En algunas modalidades, un ARN guía único (ARNgu) comprende:

una secuencia guía que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;

enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la secuencia guía;

una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38-48 y 53-63 se encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 49-52, 64, 65, 69, 70 y 73;

una región de horquilla 1 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;

nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;

una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-135 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 106-109, 110, 111, 122-125, 142 y 143,

enlaces de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,

en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00498] En algunas modalidades, un ARN guía único (ARNgu) comprende:

una secuencia guía que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;

enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la secuencia guía;

una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38, 41-48 y 53-60, y 63 se encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 39-40, 49-52, 61-62, 64, 65, 69, 70, y 73;

una región de horquilla 1 acortada, donde los nucleótidos 86 y 91 se encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

- 5 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;
nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;
una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-135 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
- 10 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 110, 111, 122-125, 142 y 143,
enlaces de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,
en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00499] En algunas modalidades, un ARN guía único (ARNgu) comprende:

- 15 una secuencia guía que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;
enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la secuencia guía;
una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38, 41-48 y 53-60, y 63 se
- 20 encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 39-40, 49-52, 61-62, 64, 65, 69, 70, y 73;
un enlace de PS entre los nucleótidos 76-77 entre la región de repetición/antirrepetición acortada y la región de horquilla 1 acortada;
- 25 una región de horquilla 1 acortada, donde los nucleótidos 86 y 91 están eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;
nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;
- 30 una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-135 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 106-109, 110, 111, 122-125, 142 y 143,
enlaces de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,
en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID
- 35 NO: 500.

[00500] En algunas modalidades, un ARN guía único (ARNgu) comprende:

- una secuencia guía que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los primeros cuatro nucleótidos 1-4;
enlaces de PS entre los nucleótidos 1-2, 2-3 y 3-4; y
- 40 nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 5, 8, 9, 11, 13, 18 y 22 de la secuencia guía;
una región de repetición/antirrepetición acortada, donde los nucleótidos 38, 41-48 y 53-60, y 63 se encuentran eliminados con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:
nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 25, 29, 30, 31, 32, 37, 39-40, 49-52, 61-62, 64, 65, 69, 70, y 73;
- 45 una región de horquilla 1 acortada, donde los nucleótidos 86 y 91 están eliminados con respecto a la

SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 80, 81, 83, 84, 85, 87-90, 92-94 y 99;

nucleótido modificado con 2'-O-Me en el nucleótido 101 entre la región de horquilla 1 acortada y la región de horquilla 2 acortada;

- 5 una región de horquilla 2 acortada, donde se eliminan los nucleótidos 112-120 y 127-135 con respecto a la SEQ ID NO: 500, que comprende:

nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 104, 106-109, 110, 111, 122-125, 142 y 143, enlaces de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143,

en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

KITS Y COMPOSICIONES

[00501] Se incluyen composiciones que comprenden cualquiera de los ARNg descritos en la presente y un portador, excipiente, diluyente o similares. En algunos casos, el excipiente o diluyente es inerte. En algunos casos, el excipiente o diluyente no es inerte. En determinadas modalidades, el vehículo, excipiente o diluyente es apirógeno. En determinadas modalidades, el vehículo, excipiente o diluyente es estéril. En algunas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica que comprende cualquiera de los ARNg descritos en el presente documento y un portador, excipiente, diluyente o similar farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica comprende además una LNP. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica comprende además una proteína Cas9 o un ARNm que codifica una proteína Cas9. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica comprende uno de cualquiera o más de los ARNg, una LNP y una proteína Cas o ARNm que codifica una proteína Cas. En algunas modalidades, el ARNg es un ARNgu. En algunas modalidades, la proteína Cas es una proteína Cas monomérica, por ejemplo, una proteína Cas9. En algunas modalidades, la proteína Cas es una proteína Nme Cas. En algunas modalidades, la proteína Cas incluye múltiples subunidades.

[00502] También se proporcionan kits que comprenden uno o más ARNg, composiciones o formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento. En algunas modalidades, un kit comprende además uno o más de un solvente, solución, amortiguador, cada uno separado de la composición o formulación farmacéutica, instrucciones o desecante.

Composiciones que comprenden un agente de unión a ADN guiado por ARN o un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN

[00503] En algunas modalidades, se proporcionan composiciones o formulaciones farmacéuticas que comprenden al menos un ARNg, preferentemente ARNgu, descrito en el presente documento y un agente de unión a ADN guiado por ARN o un ácido nucleico (por ejemplo, un ARNm) que codifica un agente de unión al ADN guiado al ARN. En algunas modalidades, el agente de unión al ADN guiado por ARN es una proteína Cas. En algunas modalidades, el ARNg junto con una proteína Cas o un ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) que codifica la proteína Cas se denomina RNP Cas. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN es uno que funciona con el ARNg para dirigir un agente de unión a ADN guiado por ARN a una secuencia de ácido nucleico objetivo. En algunas modalidades, el agente de unión al ADN guiado por ARN es una proteína Cas del sistema CRISPR/Cas de tipo II. En algunas modalidades, la proteína Cas es Cas9. En algunas modalidades, la proteína Cas9 es una Cas9 de tipo salvaje. En algunas modalidades, la proteína Cas9 se deriva de Cas9 de *Neisseria meningitidis* (NmeCas9). En algunas modalidades, se proporcionan composiciones que comprenden al menos un ARNg y una nucleasa o un ARNm que codifica una NmeCas9. En algunas modalidades, se proporcionan composiciones que comprenden al menos un ARNg y una nucleasa o un ARNm que

codifica una NmeCas9. En algunas modalidades, Cas induce una ruptura de doble cadena en el ADN objetivo. Los equivalentes de NmeCas9 y sus homólogos y variantes, otras proteínas Cas descritas en la presente se encuentran comprendidos por las modalidades descritas en la presente.

[00504] Los agentes de unión al ADN guiados por ARN, incluido Cas9, abarcan modificaciones y variantes de estos. Las versiones modificadas que tienen un dominio catalítico, ya sea RuvC o HNH, que está inactivo se denominan "nिकासas". Las nिकासas cortan solo una cadena del ADN objetivo, creando así una ruptura monocatenaria. Una ruptura de una sola hebra también se puede conocer como "mella". En algunas modalidades, las composiciones y métodos comprenden nिकासas. En algunas modalidades, las composiciones y métodos comprenden un agente de unión a ADN guiado por ARN de nिकासa, tal como una nिकासa Cas, por ejemplo, una nिकासa Cas9, que induce una mella en lugar de una ruptura de doble cadena en el ADN objetivo.

[00505] En algunas modalidades, la nucleasa, por ejemplo, el agente de unión al ADN guiado por ARN puede modificarse para contener solo un dominio de nucleasa funcional. Por ejemplo, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede modificarse de modo que uno de los dominios de nucleasa mute o se elimine total o parcialmente para reducir su actividad de escisión de ácido nucleico. En algunas modalidades, se usa una nिकासa Cas que tiene un dominio RuvC con actividad reducida. En algunas modalidades, se usa una nिकासa Cas que tiene un dominio RuvC inactivo. En algunas modalidades, se utiliza una nिकासa Cas que tiene un dominio HNH con actividad reducida. En algunas modalidades, se utiliza una nिकासa Cas que tiene un dominio HNH inactivo.

[00506] En algunas modalidades, un aminoácido conservado dentro de un dominio de nucleasa del agente de unión al ADN guiado por ARN se sustituye para reducir o alterar la actividad de la nucleasa. En algunas modalidades, una proteína Cas puede comprender una sustitución de aminoácido en el dominio de nucleasa RuvC o similar a RuvC. Los ejemplos de sustituciones de aminoácido en el dominio de nucleasa de RuvC o similar a RuvC incluyen H588A (a base de la proteína Cas9 de *N. meningitidis*). En algunas modalidades, la proteína Cas puede comprender una sustitución de aminoácido en el dominio de nucleasa HNH o tipo HNH. Los ejemplos de las sustituciones de aminoácidos en el dominio de nucleasa de HNH o similar a HNH incluyen D16A (a base de la proteína NmeCas9).

[00507] En algunas modalidades, el complejo RNP descrito en el presente documento comprende una nिकासa o un ARNm que codifica una nिकासa y un par de ARNg (uno o ambos pueden ser ARNgu) que son complementarios a las cadenas sentido y antisentido de la secuencia objetivo, respectivamente. En esta modalidad, los ARNg (por ejemplo, ARNgu) dirigen la nिकासa a una secuencia objetivo e introducen una ruptura bicatenaria (DSB) que genera una mella en las cadenas opuestas de la secuencia objetivo (es decir, doble mella). En algunas modalidades, el uso de doble mella puede mejorar la especificidad y reducir los efectos no deseados. En algunas modalidades, se usa un agente de unión a ADN guiado por ARN de nिकासa junto con dos ARNg separados (por ejemplo, ARNgu) que se seleccionan muy próximos para producir una doble mella en el ADN objetivo.

[00508] En algunas modalidades, se usan proteínas Cas quiméricas, donde un dominio o región de la proteína se reemplaza por una porción de una proteína diferente. En algunas modalidades, un dominio de nucleasa Cas puede reemplazarse con un dominio de una nucleasa diferente tal como Fok1. En algunas modalidades, una proteína Cas puede ser una nucleasa modificada.

[00509] En algunas modalidades, la nucleasa, por ejemplo, el agente de unión al ADN guiado por ARN puede modificarse para inducir una mutación puntual o un cambio de base, por ejemplo, una desaminación.

[00510] En algunas modalidades, la proteína Cas comprende una proteína de fusión que comprende una nucleasa Cas (por ejemplo, Cas9), que es una nिकासa o es catalíticamente inactiva,

unida a un dominio funcional heterólogo. En algunas modalidades, la proteína Cas comprende una proteína de fusión que comprende una nucleasa Cas catalíticamente inactiva (por ejemplo, Cas9) unida a un dominio funcional heterólogo (ver, por ejemplo, WO2014152432). En algunas modalidades, la Cas9 inactiva desde el punto de vista catalítico es una Cas9 de *N. meningitidis* inactiva desde el punto de vista catalítico. En algunas modalidades, la Cas catalíticamente inactiva comprende mutaciones que inactivan la Cas. En algunas modalidades, el dominio funcional heterólogo es un dominio que modifica la expresión génica, histonas o ADN. En algunas modalidades, el dominio funcional heterólogo es un dominio de activación transcripcional o un dominio represor transcripcional. En algunas modalidades, la nucleasa es una nucleasa Cas catalíticamente inactiva, tal como dCas9.

[00511] En algunas modalidades, el dominio funcional heterólogo es una desaminasa, tal como una citidina desaminasa o una adenina desaminasa. En determinadas modalidades, el dominio funcional heterólogo es un convertidor de bases C a T (citidina desaminasa), tal como una enzima desaminasa de edición de ARNm de apolipoproteína B (APOBEC). Un dominio funcional heterólogo tal como una desaminasa puede ser parte de una proteína de fusión con una nucleasa Cas que tiene actividad nicaasa o una nucleasa Cas que es catalíticamente inactiva.

[00512] En algunas modalidades, la secuencia diana puede ser adyacente a una PAM. En algunas modalidades, el PAM puede estar adyacente a o dentro de 1, 2, 3 o 4 nucleótidos del extremo 3' de la secuencia objetivo. La longitud y la secuencia de la PAM pueden depender de la proteína Cas utilizada. Por ejemplo, la PAM puede seleccionarse de un consenso o de una secuencia de PAM particular para una proteína Nme Cas9 específica o un ortólogo de Nme Cas9 (Edraki et al, 2019). En algunas modalidades, la PAM de Cas9 de Nme puede incluir 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 nucleótidos de longitud. Las secuencias PAM de ejemplo no taxativas incluyen NCC, N4GAYW, N4GYTT, N4GTCT, NNNNCC(a), NNNNCAAA, (en las que N se define como cualquier nucleótido, W se define como A o T, y R se define como A o G; y (a) es una A preferida, pero no obligatoria, después de la segunda C)). En algunas modalidades, la secuencia de PAM puede ser NCC.

[00513] En algunas modalidades, el dominio funcional heterólogo puede facilitar el transporte del agente de unión al ADN guiado por ARN al núcleo de una célula. Por ejemplo, el dominio funcional heterólogo puede ser una señal de localización nuclear (NLS). En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con 1 a 10 NLS. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con 1 a 5 NLS. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con una NLS. Cuando se utiliza una NLS, la NLS se fusiona preferentemente en el extremo N de la secuencia del agente de unión a ADN guiado por ARN. También puede insertarse dentro de la secuencia del agente de unión al ADN guiado por ARN. En otras modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con más de una NLS. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con 2, 3, 4 o 5 NLS. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con dos NLS. En algunas modalidades, las NLS pueden fusionarse con el extremo N de la secuencia del agente de unión al ADN guiado por ARN. En algunas modalidades, se pueden fusionar NLS solo al extremo N de la secuencia de agente de unión de ADN guiado por ARN. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede no tener NLS insertada dentro de la secuencia del agente de unión a ADN guiado por ARN. En determinadas modalidades, puede no tener NLS de extremo C con respecto a la secuencia del agente de unión al ADN guiado por ARN.

[00514] En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con dos NLS. En determinadas circunstancias, los dos NLS pueden ser iguales (por ejemplo, dos NLS de SV40) o diferentes. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN se fusiona

con dos secuencias NLS (por ejemplo, SV40) en el extremo amino. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con dos NLS, una en el extremo N y otra en el extremo C. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN puede fusionarse con 3 NLS. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN no se encuentra fusionado con una NLS en el extremo C. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN no incluye una NLS insertada dentro de la secuencia del agente de unión a ADN guiado por ARN. NLS puede fusionarse en el extremo C del agente de unión al ADN guiado por ARN. Se incluyen opcionalmente uno o más enlazadores en el sitio de fusión.

[00515] En algunas modalidades, la NLS puede ser una secuencia monopartita, tal como, por ejemplo, NLS de SV40, PKKKRKV (SEQ ID NO: 669) o PKKKRRV (SEQ ID NO: 670). En algunas modalidades, la NLS puede ser una secuencia bipartita, tal como la NLS de nucleoplasmina, KRPAATKAGQAKKKK (SEQ ID NO: 682). En algunas realizaciones, la secuencia NLS puede comprender LAAKRSRTT (SEQ ID NO: 671), QAAKRSRTT (SEQ ID NO: 672), PAPAKRERTT (SEQ ID NO: 673), QAAKRPRTT (SEQ ID NO: 674), RAAKRPRTT (SEQ ID NO: 675), AAAKRSWSMAA (SEQ ID NO: 676), AAAKRVWSMAF (SEQ ID NO: 677), AAAKRSWSMAF (SEQ ID NO: 678), AAAKRKYFAA (SEQ ID NO: 679), RAAKRKAFAA (SEQ ID NO: 680), o RAAKRKYFAV (SEQ ID NO: 681). El NLS puede ser una snurportina-1 importina- β (dominio IBB, por ejemplo, una secuencia SPN1-imp β). Véase Huber et al., 2002, J. Cell Bio., 156, 467-479. En una modalidades específica, un único PKKKRKV (SEQ ID NO: 669). En algunas modalidades, la primera y la segunda NLS se seleccionan independientemente de una NLS de SV40, una NLS de nucleoplasmina, una NLS bipartita, una NLS similar a c-myc y una NLS que comprende la secuencia KTRAD. En determinadas modalidades, el primer y segundo NLS pueden ser iguales (por ejemplo, dos NLS SV40). En determinadas modalidades, la primera y la segunda NLS pueden ser diferentes.

[00516] En algunas modalidades, el primer NLS es un SV40NLS y el segundo NLS es un NLS de nucleoplasmina.

[00517] En algunas modalidades, el SV40 NLS comprende una secuencia de SEQ ID NO: 683 o 684. En algunas modalidades, la nucleoplasmina NLS comprende una secuencia de SEQ ID NO: 682. En algunas modalidades, la NLS bipartita comprende una secuencia de SEQ ID NO: 685. En algunas modalidades, la NLS similar a c-myc comprende una secuencia de SEQ ID NO: 686.

[00518] En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 90 %, 93 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 600-603, 605, 607-620 o 707-712 (como se muestra en la Tabla 4A).

[00519] En algunas modalidades, un polinucleótido que codifica el agente de unión a ADN guiado por ARN comprende una secuencia de nucleótidos con al menos 90 %, 93 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % de identidad con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO: 621-623, 626-643, 645, 647-668, 701-706 y 713-718 (ARNm de NmeCas9 y ORF como se muestran en la Tabla 4A).

[00520] En algunas modalidades, el ARNm que codifica el agente de unión a ADN guiado por ARN comprende un marco de lectura abierta (ORF) que comprende una secuencia con al menos el 90 %, 93 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %, o con 100 % de identidad con respecto a cualquiera de las SEQ ID NO: 621-623, 626-639 y 713-718 como se muestra en la Tabla 4A.

MÉTODOS DE USO

[00521] En algunas modalidades, cualquiera de uno o más de los ARNg (por ejemplo, ARNgu), composiciones o formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento se utilizan en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno en un sujeto.

[00522] En algunas modalidades, la invención comprende un método para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno en un sujeto que comprende administrar uno cualquiera o más de los ARNg (por ejemplo, ARNgu), composiciones o formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento.

[00523] En algunas modalidades, la invención comprende un método o uso para modificar un ADN objetivo que comprende, administrar o entregar uno cualquiera o más de los ARNg (por ejemplo, ARNgu), composiciones o formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento.

[00524] En algunas modalidades, la invención comprende un método o uso para la modulación de un gen objetivo que comprende administrar o entregar cualquiera de uno o más de los ARNg (por ejemplo, ARNgu), composiciones o formulaciones farmacéuticas descritas en la presente. En algunas modalidades, la modulación es la edición del gen objetivo. En algunas modalidades, la modulación es un cambio en la expresión de la proteína codificada por el gen objetivo.

[00525] Como se usa en el presente documento, una "edición del genoma" o "modificación genética" es un cambio a nivel del ADN, por ejemplo, inducido por un complejo ARNg/Cas. Una edición del genoma o modificación genética puede comprender una inserción, eliminación o sustitución (sustitución de bases, por ejemplo, C por T o mutación puntual), típicamente dentro de una secuencia definida o locus genómico. Una modificación genética cambia la secuencia de ácidos nucleicos del ADN. Una modificación genética puede realizarse en una única posición de nucleótido. Una modificación genética puede realizarse en múltiples nucleótidos, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o más nucleótidos, típicamente muy próximos entre sí, por ejemplo, nucleótidos contiguos.

[00526] En algunas modalidades, el método o uso tiene como resultado la edición de genomas. En algunas modalidades, el método o uso tiene como resultado una ruptura de doble cadena dentro del gen objetivo. En algunas modalidades, el método o uso tiene como resultado la formación de mutaciones indel durante la unión de extremos no homólogos de la DSB. En algunas modalidades, el método o uso tiene como resultado una inserción o eliminación de nucleótidos en un gen objetivo. En algunas modalidades, la inserción o eliminación de nucleótidos en un gen diana conduce a una mutación por desplazamiento del marco de lectura o un codón de parada prematuro que tiene como resultado una proteína no funcional. En algunas modalidades, la inserción o eliminación de nucleótidos en un gen diana conduce a una reducción o eliminación de la expresión del gen objetivo. En algunas modalidades, el método o uso comprende la reparación dirigida por homología de una DSB. En algunas modalidades, el método o uso comprende además administrar a la célula una plantilla, en donde al menos una parte de la plantilla se incorpora a un ADN objetivo en o cerca de un sitio de ruptura de doble cadena inducida por la nucleasa. En algunas modalidades, el método o uso tiene como consecuencia una ruptura monocatenaria en el gen objetivo. En algunas modalidades, el método o uso tiene como resultado un cambio de base, por ejemplo, mediante desaminación, dentro del gen objetivo. La edición de genes normalmente ocurre dentro o adyacente a la parte del gen diana con la que la secuencia espaciadora forma un dúplex.

[00527] En algunas modalidades, el método o uso tiene como resultado la modulación genética. En algunas modalidades, la modulación genética es un aumento o disminución de la expresión génica, un cambio en el estado de metilación del ADN o una modificación de una subunidad de histona. En algunas modalidades, el método o uso tiene como resultado una expresión aumentada o disminuida de la proteína codificada por el gen objetivo.

[00528] La eficacia de los ARNg se puede probar *in vitro* e *in vivo*. En algunas modalidades, la invención comprende uno o más de los ARNg, composiciones o formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento, en donde el ARNg tiene como resultado una modulación genética cuando se proporciona a una célula junto con una nucleasa Cas, por ejemplo, Cas9 o ARNm que codifica Cas9. En

algunas modalidades, la eficacia del ARNg se puede medir *in vitro* o *in vivo*.

[00529] En algunas modalidades, la actividad de una RNP Cas que comprende un ARNg se compara con la actividad de una RNP Cas que comprende un ARNgu no modificado o un ARNgu de referencia que carece de modificaciones presentes en el ARNgu, tal como uno o más conectores internos, regiones acortadas. En algunas modalidades, el ARNgu no incluye un enlazador interno.

[00530] En algunas modalidades, la eficacia de un ARNg para aumentar o disminuir la expresión de la proteína diana se determina midiendo la cantidad de proteína objetivo.

[00531] En algunas modalidades, la eficacia de la edición con ARNg específicos está determinada por la edición presente en la ubicación objetivo en el genoma después de la administración de una nucleasa Cas y el ARNg. En algunas modalidades, la eficacia de la edición con ARNg específicos se mide mediante secuenciación de próxima generación (NGS). En algunas modalidades, se determina el porcentaje de edición de la región de interés objetivo. En algunas modalidades, el número total de lecturas de secuencia con alteraciones de secuencia, por ejemplo, inserciones o eliminaciones (indeles), o cambios de bases sin inserción o eliminación, de nucleótidos en la región objetivo de interés sobre el número total de lecturas de secuencia se mide siguiendo la entrega de un ARNg y una nucleasa Cas.

[00532] En algunas modalidades, la eficacia de la edición con ARNg específicos se mide por la presencia de alteraciones de secuencia, por ejemplo, inserciones o eliminaciones, o sustitución de bases, o mutación puntual de nucleótidos introducida mediante una edición de genoma exitosa. En algunas modalidades, la actividad de una nucleasa Cas y ARNg se prueba en ensayos bioquímicos. En algunas modalidades, la actividad de una nucleasa Cas y ARNg se prueba en un ensayo de escisión libre de células. En algunas modalidades, la actividad de una nucleasa Cas y ARNg se prueba en células Neuro2A. En algunas modalidades, la actividad de una nucleasa Cas y ARNg se prueba en células primarias, por ejemplo, hepatocitos primarios.

[00533] En algunas modalidades, la actividad de los ARNg modificados se mide después de la dosificación *in vivo* de LNP que comprenden ARNg modificados y proteína Cas o ARNm que codifica la proteína Cas.

[00534] En algunas modalidades, la eficacia *in vivo* de un ARNg o una composición proporcionada en el presente documento se determina editando la eficacia medida en ADN extraído de tejido (por ejemplo, tejido hepático) después de la administración de ARNg y una nucleasa Cas.

[00535] En algunas modalidades, la activación de la respuesta inmunitaria del sujeto se mide mediante concentraciones séricas de una o más citocinas después de la dosificación *in vivo* de ARNg junto con ARNm o proteína de nucleasa Cas (por ejemplo, formulada en una LNP). En algunas modalidades, la citocina es interferón alfa (IFN-alfa), interleucina 6 (IL-6), proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) o factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa).

[00536] En algunas modalidades, la administración de ARNm de RNP Cas o nucleasa Cas junto con el ARNg modificado (por ejemplo, ARNgu) produce concentraciones séricas más bajas de citocinas inmunitarias en comparación con la administración de ARNgu no modificado. En algunas modalidades, la invención comprende métodos que comprenden administrar cualquiera de los ARNg descritos en el presente documento a un sujeto, en donde el ARNg provoca una concentración más baja de citocinas inmunitarias en el suero del sujeto en comparación con un ARNg de control que no está modificado de manera similar.

ADMINISTRACIÓN DE ARN GUÍA

[00537] En algunas modalidades, las composiciones de ARNg, las composiciones o las formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento, solas o codificadas en uno o más vectores, se formulan o se administran a través de una nanopartícula lipídica; véase, por ejemplo,

WO2017/173054, cuyo contenido se incorpora en el presente documento mediante esta referencia en su totalidad.

Lípidos; formulación; entrega

[00538] Se describen en el presente documento diversas modalidades que utilizan composiciones de ensamblaje de ácido nucleico lipídico que comprenden ácidos nucleicos o composiciones descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, la composición de ensamblaje de ácido nucleico lipídico comprende un ARNg descrito en el presente documento, por ejemplo, un ARNg que comprende una región guía y una región conservada, la región conservada comprende uno o más de: (a) una región de repetición/antirrepetición acortada, en donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos, en donde (i) uno o más de los nucleótidos 37-48 y 53-64 se encuentran eliminados y opcionalmente uno o más de los nucleótidos 37-64 están sustituidos con respecto a la SEQ ID NO: 500; y (ii) el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante al menos 2 nucleótidos; o (b) una región de horquilla 1 acortada, donde la horquilla 1 acortada carece de 2-10, opcionalmente de 2-8 nucleótidos, donde (i) uno o más de los nucleótidos 82-86 y 91-95 se encuentran eliminados y opcionalmente uno o más de las posiciones 82-96 se sustituyen con respecto a SEQ ID NO: 500; y (ii) el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante al menos 4 nucleótidos; o (c) una región de horquilla 2 acortada, donde la horquilla 2 acortada carece de 2-18, opcionalmente de 2-16 nucleótidos, donde (i) uno o más de los nucleótidos 113-121 y 126-134 se encuentran eliminados y opcionalmente uno o más de los nucleótidos 113-134 están sustituidos con respecto a la SEQ ID NO: 500; y (ii) el nucleótido 112 está unido al nucleótido 135 mediante al menos 4 nucleótidos; en el que uno o ambos de los nucleótidos 144-145 están opcionalmente eliminados con respecto a SEQ ID NO: 500; en donde al menos 10 nucleótidos son nucleótidos modificados.

[00539] Como se usa en el presente documento, una "composición de ensamblaje de ácido nucleico lipídico" se refiere a composiciones de administración a base de lípidos, que incluyen nanopartículas lipídicas (LNP) y lipoplejos. LNP se refiere a nanopartículas lipídicas <100 nM. Las LNP se forman mezclando con precisión un componente lipídico (por ejemplo, en etanol) con un componente de ácido nucleico acuoso y los LNP son de tamaño uniforme. Los lipoplejos son partículas formadas mezclando en masa los componentes de lípidos y ácidos nucleicos y tienen un tamaño de entre aproximadamente 100 nm y 1 micra. En determinadas modalidades, los conjuntos de ácidos nucleicos lipídicos son LNP. Como se usa en el presente documento, un "ensamblaje de ácido nucleico lipídico" comprende una pluralidad (es decir, más de una) de moléculas lipídicas asociadas físicamente entre sí mediante fuerzas intermoleculares. Un conjunto de ácido nucleico lipídico puede comprender un lípido biodisponible que tiene un valor de pKa de <7,5 o <7. Los conjuntos de ácidos nucleicos lipídicos se forman mezclando una solución acuosa que contiene ácido nucleico con una solución lipídica basada en un disolvente orgánico, por ejemplo, etanol al 100 %. Las soluciones o solventes adecuados incluyen o pueden contener: agua, PBS, amortiguador Tris, NaCl, amortiguador de citrato, etanol, cloroformo, dietiléter, ciclohexano, tetrahidrofurano, metanol, isopropanol. Opcionalmente, un amortiguador farmacéuticamente aceptable puede estar comprendido en una formulación farmacéutica que comprende los conjuntos de ácidos nucleicos lipídicos, por ejemplo, para una terapia *ex vivo*. En algunas modalidades, la solución acuosa comprende un ARNg descrito en el presente documento. En algunas modalidades, la solución acuosa comprende además un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, tal como Cas9.

[00540] Como se usa en el presente documento, nanopartícula lipídica (LNP) se refiere a una partícula que comprende una pluralidad de (es decir, más de una) moléculas lipídicas asociadas físicamente entre sí mediante fuerzas intermoleculares. Las LNP pueden ser, por ejemplo, microesferas

(incluidas vesículas unilaminares y multilaminares, por ejemplo, "liposomas" (bicapas lipídicas de fase laminar que, en algunas modalidades, son sustancialmente esféricas) y, en modalidades más particulares, pueden comprender un núcleo acuoso, por ejemplo, que comprende una parte sustancial de moléculas de ARN), una fase dispersa en una emulsión, micelas o una fase interna en una suspensión. Las emulsiones, micelas y suspensiones pueden ser composiciones adecuadas para administración local y/o tópica. Véase también, por ejemplo, WO2017173054A1, cuyo contenido se incorpora en el presente documento mediante esta referencia en su totalidad. Puede utilizarse cualquier LNP conocida por los expertos en la técnica por a su capacidad de administrar nucleótidos a sujetos con los ARN guía y el ácido nucleico que codifica una nicasa guiada por ARN y el ácido nucleico que codifica una desaminasa de citidina descrita en la presente.

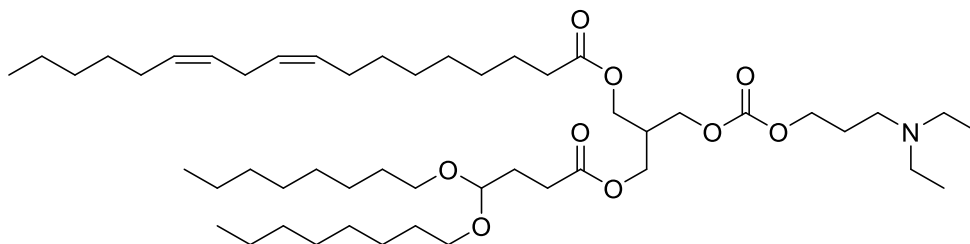
[00541] En algunas modalidades, la solución acuosa comprende un ARNg descrito en la presente y adicionalmente, de forma opcional, comprende un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, tal como Cas9. Una formulación farmacéutica que comprende la composición de ensamblaje de ácido nucleico lipídico puede comprender opcionalmente un amortiguador farmacéuticamente aceptable.

[00542] En algunas modalidades, las composiciones de ensamblaje de ácido nucleico lipídico incluyen un "lípidio amina" (a veces descrito en el presente documento o en otro lugar como un "lípidio ionizable" o un "lípidio biodegradable"), junto con un "lípidio auxiliar" opcional, un "lípidio neutro" y un lípidio oculto tal como un lípidio de polietilenglicol. En algunas modalidades, los lípidos de amina o los lípidos ionizables son catiónicos dependiendo del pH.

Lípidos de amina

[00543] En algunas modalidades, las composiciones de ensamblaje de ácido nucleico lipídico comprenden un "lípidio de amina", que es, por ejemplo, un lípidio ionizable tal como el lípidio A o sus equivalentes, incluidos análogos de acetal del lípidio A.

[00544] En algunas modalidades, el lípidio de amina es el lípidio A, que es octadeca-9,12-dienoato de (9Z,12Z)-3-((4,4-bis(octiloxi)butanoil)oxi)-2-(((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propilo, también llamado (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoato de 3-((4,4-bis(octiloxi)butanoil)oxi)-2-(((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propilo. El lípidio A se puede representar como:



[00545] El lípidio A se puede sintetizar según el documento WO2015/095340 (por ejemplo, págs. 84 a 86). En algunas modalidades, el lípidio de amina es un equivalente al lípidio A.

[00546] En algunas modalidades, un lípidio de amina es un análogo del lípidio A. En algunas modalidades, un análogo del lípidio A es un análogo acetal del lípidio A. En composiciones de ensamblaje de ácido nucleico lipídico particulares, el análogo acetal es un compuesto análogo de acetal C4-C12. En algunas modalidades, el análogo de acetal es un análogo de acetal C5-C12. En modalidades adicionales, el análogo de acetal es un análogo de acetal C5-C10. En modalidades adicionales, el análogo de acetal se elige entre un análogo de acetal C4, C5, C6, C7, C9, C10, C11 y C12.

[00547] Los lípidos de amina y otros "lípidos biodegradables" adecuados para su uso en los conjuntos de ácidos nucleicos lipídicos descritos en el presente documento son biodegradables *in vivo* o *ex vivo*. Los lípidos de amina tienen baja toxicidad (por ejemplo, se toleran en modelos animales sin efectos adversos en cantidades mayores o iguales a 10 mg/kg). En algunas modalidades, los

ensamblajes de ácido nucleico lipídico que comprenden un lípido de amina incluyen aquellos en los que al menos el 75 % del lípido de amina se elimina del plasma o de la célula modificada en 8, 10, 12, 24 o 48 horas, o 3, 4, 5, 6, 7 o 10 días. En algunas modalidades, los conjuntos de ácido nucleico lipídico que comprenden un lípido de amina incluyen aquellos en los que al menos el 50 % del ácido nucleico, por ejemplo, ARNm o ARNg, se elimina del plasma en 8, 10, 12, 24 o 48 horas, o 3, 4, 5, 6, 7 o 10 días. En algunas modalidades, los ensamblajes de ácido nucleico lipídico que comprenden un lípido de amina incluyen aquellos en los que al menos el 50 % del conjunto de ácido nucleico lipídico se elimina del plasma en 8, 10, 12, 24 o 48 horas, o 3, 4, 5, 6, 7 o 10 días, por ejemplo, midiendo un lípido (por ejemplo, un lípido de amina), ácido nucleico, por ejemplo, ARN/ARNm u otro componente. En algunas modalidades, se mide el componente de ácido nucleico, ARN o lípido encapsulado en lípido frente a libre del conjunto de ácido nucleico lipídico.

[00548] Los lípidos biodegradables incluyen, por ejemplo, los lípidos biodegradables de los documentos WO/2020/219876, WO/2020/118041, WO/2020/072605, WO/2019/067992, WO/2017/173054, WO2015/095340 y WO2014/136086, y las LNP incluyen composiciones de LNP descritas en estos, cuyos lípidos y composiciones se incorporan en la presente mediante esta referencia.

[00549] El aclaramiento de lípidos se puede medir como se describe en la bibliografía. Véase Maier, M.A., *et al.* Biodegradable Lipids Enabling Rapidly Eliminated Lipid Nanoparticles for Systemic Delivery of RNAi Therapeutics. *Mol. Ther.* 2013, 21(8), 1570-78 ("*Maier*"). Por ejemplo, en *Maier*, se administraron 0,3 mg/kg de sistemas LNP-ARNip que contienen ARNip dirigidos a luciferasas a ratones C57Bl/6 machos de seis a ocho semanas de edad mediante inyección intravenosa en bolo a través de la vena lateral de la cola. Se recolectaron muestras de sangre, hígado y bazo 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 96 y 168 horas después de la dosis. Se perfundió a los ratones 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 administraron 0, 1, 3, 5 y 10 mg/kg de un ARNip dirigido a luciferasa (5 animales/grupo) mediante una única inyección intravenosa en bolo en un volumen de dosis de 5 mL/kg a ratas Sprague-Dawley macho. Después de 24 horas, se obtuvo alrededor de 1 mL de sangre de la vena yugular de animales conscientes y se aisló el suero. Tras 72 horas desde la dosis, todos los animales fueron sacrificados para una necropsia. Se realizaron evaluaciones de signos clínicos, peso corporal, química sérica, peso de órganos e histopatología. Aunque *Maier* describe métodos para evaluar formulaciones de ARNip-LNP, estos métodos pueden aplicarse para evaluar la eliminación, la farmacocinética y la toxicidad de la administración de composiciones de ensamblaje de ácido nucleico lipídico de la presente divulgación.

[00550] Son adecuados los lípidos ionizables y biodisponibles para la administración de ácidos nucleicos por LNP conocidos en la técnica. Los lípidos pueden ser ionizables dependiendo del pH del medio en el que se encuentran. Por ejemplo, en un medio ligeramente ácido, el lípido, como un lípido de amina, puede estar protonado y por tanto tener una carga positiva. Por el contrario, en un medio ligeramente básico, tal como, por ejemplo, sangre donde el pH es alrededor de 7,35, el lípido, tal como un lípido de amina, puede no estar protonado y, por lo tanto, no llevar carga.

[00551] La capacidad de un lípido para soportar una carga está relacionada con su pKa intrínseco. En algunas modalidades, cada uno de los lípidos de amina de la presente divulgación puede tener, independientemente, un pKa en el intervalo de alrededor de 5,1 a alrededor de 7,4. En algunas modalidades, los lípidos biodisponibles de la presente descripción pueden tener cada uno, independientemente, un pKa en el intervalo de alrededor de 5,1 a alrededor de 7,4, tal como de alrededor de 5,5 a alrededor de 6,6, de alrededor de 5,6 a alrededor de 6,4, de alrededor de 5,8 a alrededor de

6,2, o desde alrededor de 5,8 hasta alrededor de 6,5. Por ejemplo, cada uno de los lípidos de amina de la presente descripción pueden tener independientemente una pKa en el independientemente de alrededor de 5,8 a alrededor de 6,5. Los lípidos con un pKa que oscila entre alrededor de 5,1 y alrededor de 7,4 son eficaces para la administración de carga in vivo, por ejemplo, al hígado. Además, se ha descubierto que los lípidos con un pKa que oscila entre alrededor de 5,3 y alrededor de 6,4 son eficaces para su administración in vivo, por ejemplo, a tumores. Véase, por ejemplo, WO2014/136086.

Lípidos adicionales

[00552] Los "lípidos neutros" adecuados para su uso en una composición de ensamblaje de ácido nucleico lipídico de la descripción 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, de forma taxativa, 5-heptadecilbenceno-1,3-diol (resorcinol), dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), distearoilfosfatidilcolina (DSPC), pofosfocolina (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 distearoilfosfatidiletanolamina (DSPE), dimiristoil fosfatidiletanolamina (DMPE), dipalmitoil fosfatidiletanolamina (DPPE), palmitoiloleoil fosfatidiletanolamina (POPE), lisofosfatidiletanolamina y combinaciones de estos. En una modalidad, el fosfolípido neutro se puede seleccionar del grupo que consiste en distearoilfosfatidilcolina (DSPC) y dimiristoil fosfatidiletanolamina (DMPE). En otra modalidad, el fosfolípido neutro puede ser distearoilfosfatidilcolina (DSPC).

[00553] Los "lípidos auxiliares" incluyen esteroides, esterol y resorcinol de alquilo. Los lípidos auxiliares adecuados para su uso en la presente descripción incluyen, de forma no taxativa, colesterol, 5-heptadecilresorcinol y hemisuccinato de colesterol. En una modalidad, el lípido auxiliar puede ser colesterol. En una modalidad, el lípido auxiliar puede ser hemisuccinato de colesterol.

[00554] Los "lípidos ocultos" son lípidos que alteran el tiempo que las nanopartículas pueden existir *in vivo* (por ejemplo, en la sangre). Los lípidos ocultos pueden ayudar en el proceso de formulación, por ejemplo, reduciendo la agregación de partículas y controlando el tamaño de las partículas. Los lípidos ocultos utilizados en este documento pueden modular las propiedades farmacocinéticas del ensamblaje de ácido nucleico lipídico o ayudar en la estabilidad de la nanopartícula *ex vivo*. Los lípidos ocultos adecuados para su uso en una composición de ensamblaje de ácido nucleico lipídico de la descripción incluyen, de forma no taxativa, lípidos ocultos que tienen un grupo principal hidrófilo unido a un resto lipídico. Los lípidos ocultos adecuados para su uso en una composición de ensamblaje de ácido nucleico lipídico de la presente descripción y la información sobre la bioquímica de dichos lípidos se pueden encontrar en Romberg *et al.*, Pharmaceutical Research, vol. 25, núm. 1, 2008, pág. 55-71 y Hoekstra *et al.*, Biochimica et Biophysica Acta 1660 (2004) 41-52. Se describen lípidos de polietilenglicol adicionales adecuados, por ejemplo, en el documento WO 2006/007712.

[00555] En una modalidad, el grupo principal hidrófilo de lípido oculto comprende un resto polimérico seleccionado de polímeros basados en polietilenglicol. Los lípidos ocultos pueden comprender un resto lipídico. En algunas modalidades, el lípido oculto es un lípido con polietilenglicol.

[00556] En una modalidad, un lípido oculto comprende un resto polimérico seleccionado de polímeros basados en polietilenglicol (a veces denominado poli(óxido de etileno)), poli(oxazolina), poli(alcohol vinílico), poli(glicerol), poli(N-vinilpirrolidona), poliaminoácidos y poli[N-(2-

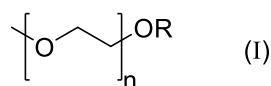
hidroxipropil)metacrilamida].

[00557] En una modalidad, el lípido con polietilenglicol comprende un resto polimérico basado en polietilenglicol (a veces denominado poli(óxido de etileno)).

[00558] El lípido con polietilenglicol comprende además un resto lipídico. En algunas modalidades, el resto lipídico puede derivarse de diacilglicerol o diacilglicamida, incluidos aquellos que comprenden un grupo dialquilglicerol o dialquilglicamida que tienen una longitud de cadena alquílica que comprende independientemente de alrededor de C4 a alrededor de C40 átomos de carbono saturados o insaturados, en donde la cadena puede comprender uno o más grupos funcionales como, por ejemplo, una amida o un éster. En algunas modalidades, la longitud de la cadena alquílica comprende alrededor de C10 a C20. El grupo dialquilglicerol o dialquilglicamida puede comprender además uno o más grupos alquilo sustituidos. Las longitudes de cadena pueden ser simétricas o asimétricas.

[00559] A menos que se indique lo contrario, el término "polietilenglicol", tal como se usa en el presente documento, significa cualquier polietilenglicol u otro polímero de éter de polialquileno. En una modalidad, el polietilenglicol es un polímero lineal o ramificado opcionalmente sustituido con etilenglicol u óxido de etileno. En una modalidad, el polietilenglicol no está sustituido. En una modalidad, el polietilenglicol está sustituido, por ejemplo, con uno o más grupos alquilo, alcoxi, acilo, hidroxilo o arilo. En una modalidad, el término incluye copolímeros de polietilenglicol tales como PEG-poliuretano o PEG-polipropileno (véase, por ejemplo, J. Milton Harris, Poly(ethylene glycol) chemistry: biotechnical and biomedical applications (1992)); en otra modalidad, el término no incluye copolímeros de polietilenglicol. En una modalidad, el polietilenglicol tiene un peso molecular de alrededor de 130 a alrededor de 50 000, en una submodalidad, de alrededor de 150 a alrededor de 30 000, en una submodalidad, de alrededor de 150 a alrededor de 20 000, en una submodalidad de alrededor de 150 a alrededor de 15 000, en una submodalidad, de alrededor de 150 a alrededor de 10 000, en una submodalidad, de alrededor de 150 a alrededor de 6000, en una submodalidad, alrededor de 150 a alrededor de 5000, en una submodalidad, de alrededor de 150 a alrededor de 4000, en una submodalidad, de alrededor de 150 a alrededor de 3000, en una submodalidad, de alrededor de 300 a alrededor de 3000, en una submodalidad, de alrededor de 1000 a alrededor de 3000, y en una submodalidad, de alrededor de 1500 a alrededor de 2500.

[00560] En algunas modalidades, el polietilenglicol (por ejemplo, conjugado con un resto lipídico o lípido, tal como un lípido oculto), es un "PEG-2K", también denominado "PEG 2000", que tiene un peso molecular promedio de unos 2000 dalton. PEG-2K se representa en el presente documento mediante la siguiente fórmula (I), en donde n es 45, lo que significa que el grado de polimerización promediado en



número comprende alrededor de 45 subunidades. Sin embargo, se pueden usar otras modalidades de polietilenglicol conocidas en la técnica, incluidas, por ejemplo, aquellas en las que el grado de polimerización promediado en número comprende alrededor de 23 subunidades (n=23) y/o 68 subunidades (n=68). En algunas modalidades, n puede oscilar entre alrededor de 30 y alrededor de 60. En una modalidad, n puede variar de alrededor de 35 a alrededor de 55. En algunas modalidades, n puede variar de alrededor de 40 a alrededor de 50. En algunas modalidades, n puede variar de alrededor de 42 a alrededor de 48. En algunas modalidades, n puede ser 45. En algunas modalidades, R puede seleccionarse de H, alquilo sustituido y alquilo no sustituido. En algunas modalidades, R puede ser alquilo no sustituido. En algunas modalidades, R puede ser metilo.

[00561] En cualquiera de las modalidades descritas en el presente documento, el lípido PEG se puede seleccionar entre PEG-dilauroilglicerol, PEG-dimiristoilglicerol (por ejemplo, 1,2-dimiristoil-rac-glicero-3-metilpolioxietilenglicol 2000 (PEG2k-DMG) o PEG-DMG (n.º de catálogo GM-020 de NOF,

Tokio, Japón), PEG-dipalmitoilglicerol, PEG-diestearoilglicerol (PEG-DSPE) (n.º de catálogo DSPE-020CN, NOF, Tokio, Japón), PEG-dilaurilglicerol, PEG -dimiristilglucamida, PEG-dipalmitoilglucamida y PEG-diestearoilglucamida, PEG-colesterol (1-[8'-(Colest-5-en-3[beta]-oxi)carboxamido-3',6'-dioxaoctanil]carbamoil-[omega]-metil-poli(etilenglicol)), PEG-DMB (éter de 3,4-ditetradecoxibencil-[omega]-metil-poli(etilenglicol)éter, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-[metoxi(polietilenglicol)-2000] (PEG2k-DMG) (n.º de cat. 880150P de Avanti Polar Lipids, Alabaster, Alabama, EUA), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-[metoxi(polietilenglicol)-2000] (PEG2k-DSPE) (n.º de cat. 880120C de Avanti Polar Lipids, Alabaster, Alabama, EUA), 1,2-diestearoil-sn-glicerol, metoxipolietilenglicol (PEG2k-DSG; GS-020, NOF Tokio, Japón), poli(etilenglicol)-2000-dimetacrilato (PEG2k-DMA) y 1,2-diesteariloxipropil-3-amina-N-[metoxi(polietilenglicol)-2000] (PEG2k-DSA). En una modalidad, el lípido con polietilenglicol puede ser 1,2-dimiristoil-rac-glicero-3-metilpolioxietilenglicol 2000 (PEG2k-DMG). En una modalidad, el lípido con polietilenglicol puede ser PEG2k-DMG. En una modalidad, el lípido con polietilenglicol puede ser PEG2k-DSG. En una modalidad, el lípido pegilado puede ser PEG2k-DSPE. En una modalidad, el lípido pegilado puede ser PEG2k-DMA. En una modalidad, el lípido de PEG puede ser PEG2k-C-DMA. En una modalidad, el lípido con polietilenglicol puede ser el compuesto S027, divulgado en el documento WO2016/010840 (párrafos [00240] a [00244]). En una modalidad, el lípido pegilado puede ser PEG2k-DSA. En una modalidad, el lípido pegilado puede ser PEG2k-C11. En algunas modalidades, el lípido pegilado puede ser PEG2k-C14. En algunas modalidades, el lípido pegilado puede ser PEG2k-C16. En algunas modalidades, el lípido pegilado puede ser PEG2k-C18.

[00562] En modalidades preferidas, el lípido PEG incluye un grupo glicerol. En modalidades preferidas, el lípido PEG incluye un grupo dimiristoilglicerol (DMG). En modalidades preferidas, el lípido PEG comprende PEG-2k. En modalidades preferidas, el lípido PEG es un PEG-DMG. En modalidades preferidas, el lípido PEG es un PEG-2k-DMG. En modalidades preferidas, el lípido PEG es 1,2-dimiristoil-rac-glicero-3-metoxipolietilenglicol2000. En modalidades preferidas, el PEG-2k-DMG es 1,2-dimiristoil-rac-glicero-3-metoxipolietilenglicol-2000.

Administración de LNP de ARNg

[00563] Las nanopartículas lipídicas (LNP) son un medio conocido para la administración de carga de nucleótidos y proteínas, y pueden usarse para la administración de ARNg (por ejemplo, ARNgu), composiciones o formulaciones farmacéuticas descritas en el presente documento. En algunas modalidades, las LNP administran ácido nucleico, proteína o ácido nucleico junto con proteína. Como se usa en el presente documento, nanopartícula lipídica (LNP) se refiere a una partícula que comprende una pluralidad de (es decir, más de una) moléculas lipídicas asociadas físicamente entre sí mediante fuerzas intermoleculares. Las LNP pueden ser, por ejemplo, microesferas (que incluyen vesículas unilamelares y multilamelares, por ejemplo, "liposomas", capas dobles de lípidos en fase lamelar que, en algunas modalidades, son sustancialmente esféricas y, en modalidades más particulares, pueden comprender un núcleo acuoso, por ejemplo, que comprende una parte sustancial de moléculas de ARN), una fase dispersa en una emulsión, micelas o una fase interna en una suspensión (vea, por ejemplo, WO2017173054, cuyo contenido se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad). Puede utilizarse cualquier LNP conocida por los expertos en la técnica como capaz de administrar nucleótidos a los sujetos.

[00564] En algunas modalidades, la invención comprende un método para administrar cualquiera de los ARNg descritos en el presente documento a un sujeto, en donde el ARNg está asociado con una LNP. En algunas modalidades, el ARNg/LNP también está asociado con una nucleasa Cas o un

polinucleótido (por ejemplo, ARNm o ADN) que codifica una nucleasa Cas.

[00565] En algunas modalidades, la invención comprende una composición que comprende cualquiera de los ARNg descritos en el presente documento y una LNP. En algunas modalidades, la composición comprende además una Cas9 o un polinucleótido (por ejemplo, ARNm o ADN) que codifica Cas9.

5 [00566] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento un método para administrar cualquiera de los ARNg descritos en el presente documento a una célula o una población de células o un sujeto, inclusive a una célula o población de células en un sujeto in vivo, en donde uno o más de los componentes están asociados con una LNP. En algunas modalidades, el método comprende además un agente de unión a ADN guiado por ARN (por ejemplo, Cas9 o un polinucleótido
10 (por ejemplo, ARNm o ADN) que codifica Cas9).

[00567] En algunas modalidades, en el presente documento se proporciona una composición que comprende cualquiera de los ARNg descritos en el presente documento o la construcción donante divulgada en el presente documento, solo o en combinación, con una LNP. En algunas modalidades, la composición comprende también un agente de unión a ADN guiado por ARN (por ejemplo, Cas9 o un
15 polinucleótido (por ejemplo, ARNm o ADN) que codifica Cas9).

[00568] En algunas modalidades, las LNP comprenden lípidos catiónicos. En algunas modalidades, las LNP comprenden octadeca-9,12-dienoato de (9Z,12Z)-3-((4,4-bis(octiloxi)butanoil)oxi)-2-(((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propilo, también llamado (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoato de 3-((4,4-bis(octiloxi)butanoil)oxi)-2-(((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propilo. En algunas modalidades, las LNP comprenden relaciones
20 molares de un lípido de amina catiónico a ARN fosfato (N:P) de aproximadamente 4,5. En algunas modalidades, las LNP comprenden 8-((7,7-bis(octiloxi)heptil)(2-hidroxietil)amino)octanoato de nonilo. En algunas modalidades, las LNP comprenden relaciones molares de un lípido de amina catiónico a ARN fosfato (N:P) de aproximadamente 4,5 a 6,5. En algunas modalidades, las LNP comprenden relaciones molares de un lípido de amina catiónico a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 4,5. En algunas modalidades, las LNP comprenden relaciones molares de una amina lipídica catiónica con respecto a fosfato de ARN (N:P) de alrededor de 6,0.

[00569] En algunas modalidades, las LNP asociadas con los ARNg descritos en el presente documento se utilizan en la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad o trastorno.

30 [00570] La electroporación es un medio conocido para la entrega de carga y se puede usar cualquier metodología de electroporación para la entrega de cualquiera de los ARNg descritos en el presente documento. En algunas modalidades, se puede usar electroporación para administrar cualquiera de los ARNg descritos en el presente documento y Cas9 o un polinucleótido (por ejemplo, ARNm o ADN) que codifica Cas9.

35 [00571] En algunas modalidades, la invención comprende un método para administrar cualquiera de los ARNg descritos en el presente documento a una célula ex vivo, en donde el ARNg está asociado con una LNP o no está asociado con una LNP. En algunas modalidades, el ARNg/LNP o ARNg también está asociado con una Cas9 o un polinucleótido (por ejemplo, ARNm o ADN) que codifica Cas9. (Véase, por ejemplo, PCT/US2021/029446, incorporado en el presente documento mediante referencia)

40 [00572] En algunas modalidades, el vector comprende una o más secuencias de nucleótidos que codifican un ARNm que codifica una ADN nucleasa guiada por ARN, que puede ser una nucleasa Cas, tal como NmeCas9. En algunas modalidades, el vector comprende un ARNm que codifica una nucleasa de ADN guiada por ARN, que puede ser una proteína Cas, tal como una proteína Cas9. En una modalidad, el Cas9 es NmeCas9.

45 [00573] En algunas modalidades, los componentes pueden introducirse como ácido nucleico no

asociado a proteínas, como ácido nucleico en complejo con un agente tal como un liposoma o poloxámero, o pueden administrarse mediante vectores virales (por ejemplo, adenovirus, AAV, herpesvirus, retrovirus, lentivirus). Los métodos y composiciones para la administración no viral de ácidos nucleicos incluyen electroporación, lipofección, microinyección, biolística, virosomas, liposomas, inmunoliposomas, LNP, polimerización o conjugados de lípido:ácido nucleico, ácido nucleico no asociado a proteínas (por ejemplo, ADN/ARN no asociado a proteínas), viriones artificiales y absorción de ADN mejorada por agentes. También se puede utilizar la sonoporación utilizando, por ejemplo, el sistema Sonitron 2000 (Rich-Mar) para la administración de ácidos nucleicos.

[00574] En algunas modalidades, las LNP asociadas con los ARNg descritos en el presente documento se utilizan en la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad o trastorno.

[00575] La presente descripción y modalidades ejemplares no deben tomarse como limitativas. Para los fines de esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, a menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades, porcentajes o proporciones, y otros valores numéricos utilizados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, deben entenderse modificados en todos los casos por "alrededor de" o "aproximadamente", en la medida en que no estén ya modificados así.

Tabla 4A Tabla de secuencias

SEQ ID No.	Descripción	Secuencia
600	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm A	MTGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLR ARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV ANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQR PALSGDAVQKMLGHCTFEPAPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLL GLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPE ILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRLALSQARKVINGV VRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGCLYSGKEI NLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRIL LQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACS TVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLAEKL SSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSKRFBKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKAR LEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYA WQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLI QKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE
601	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm B	MTGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLR ARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV ANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQR PALSGDAVQKMLGHCTFEPAPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLL GLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPE ILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRLALSQARKVINGV VRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGCLYSGKEI NLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRIL

		LQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACS TVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKL SSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSKRFBVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKAR LEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYA WQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLI QKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE
602	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificada por ARNm C	MTGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLR ARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV ANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQR PALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLL GLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPE ILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRLALSQARKVINGV VRRYGSPIRIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGCLYSGKEI NLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSFRFPRSKKQRIL LQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACS TVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKL SSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSKRFBVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKAR LEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYA WQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLI QKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE
603	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm D	MTGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLR ARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGV ANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQR PALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLL

		GLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPE ILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRLALSQARKVINGV VRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGKCLYSGKEI NLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETS RFPRSKKQRIL LQKFDEEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACS TVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKL SSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSKRFRVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKAR LEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCCKVDKKGKNQYFIVPIYA WQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLI QKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE
604	Secuencia de aminoácidos para el editor de bases SpyCas9 codificado por ARNm E	MEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYLCYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVP SLQLDPAQIYRVTWFIWSWPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKHC WDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLRAILQNQGNSSGSETPGTSESATPESDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKV PSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSSFFHRLEESFLVEE DKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVKLFIQLVQTYN QLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALLSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDL NLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFPFLKDNREKIEKIL TFRIPYYVGPLARGNSRFawMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLEYFTVYNELT KVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKD KDFLD NEENEDILEDIVLTLTFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANR NFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDLVKVMGRHHPENIVIEMARENQTTQKG QKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNK VLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKMKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILD

		SRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYKVVREINNYHHAHDAYLNAVVGITALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDV RKMIASEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSPQVNVKKTEVQ TGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSSFENPIDFLEA KGYKEVKKDLIIKLPKYSLELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGGSPEDNEQKQLFVEQHKHYL DEIEQISEFSKRVILADANLDKVL SAYNKHDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVL DATLIHQ SIT GLYETRIDLSQLGGDGGGSPKKKRKV
605	Secuencia de aminoácidos para Nme1Cas9 codificado por ARNm F	MAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGV RVFERAEV PKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRRAHRLLRTR RLLKREGVLQAANFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLT PLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAG NAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQSDYSHTFSRKDLQAE LILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPAL SGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLT KLNNLRILEQQSERPLTDTERATLMDEPYRKS KLTYAQARKLLGLE DTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPNL SPELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRIQPEILEA LLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVL RALSQARKVINGV VRR YGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGE PKSKDILKLRLYEQQH GKCLYSGKEINLG RLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQ KFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVADRMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRH HALDAVVVACST VAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTLEKLRTLLAEKLS SRPEAVHEYVTPLFVS RAPNRKMSGQGHEMETVKS AKRLDEGVSVLRVPLTQLKLDLEKMVNRE REP KLYEALKARLEAH KDDPAKAFAEPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGVWVRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYYLVPIYSWQVAKGIL PDRVVQ GKDEEDWQLIDDSFNFKFSLHPNDLVEVITKKAR MFGYFASCHRG TGNNIRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKTALS FQKYQIDELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE
606	Secuencia de aminoácidos para UGI codificada por ARNm G	MTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEEVEEVIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKML SGGSKRTADGSEFESPKKKRKVE
607	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm H	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGV RVFERAEV PKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRRAHRLLRAR RLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLT PLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAN

		NAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPA LSGDAVQKMLGHCTFEPAPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQQSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLLGL EDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILE ALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVLRALSQARKVINGVVR RYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGCLYSGKEINL VRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILL QKFDEDDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRRHHALDAVVVACST VAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRLLAEKLS SRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSKRFBVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARL EAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKSGGGSPKKKRKVS GSGKKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKG SKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
608	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm I	MVPKKKRKVAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRR AHRLLRARRLLKREGVLQAADFDEGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELG ALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETL LMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQQSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQ ARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKD RVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVLRALSQAR KVINGVVRRYYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGCL YSGKEINLVRNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPR SKKQRILLQKFDEDDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRRHHALDA VVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLR TLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSKRFBVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELY EALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQY

		FIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRYPYDVPDYAAAPAAKKKKLD
609	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm J	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRRAHRLLRAR RLLKREGVLQAADFDEGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAN NAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPA LSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQQSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLLGL EDTAFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILE ALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVLRALSQARKVINGVVR RYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGKCLYSGKEINL VRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILL QKFDEEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACST VAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLS SRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSARFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARL EAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKKNQYFIVPIYAW QVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQ KYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
610	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm K	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRRAHRLLRAR RLLKREGVLQAADFDEGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAN NAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPA LSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQQSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLLGL EDTAFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILE ALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVLRALSQARKVINGVVR RYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGKCLYSGKEINL VRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILL

		QKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACST VAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLS SRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSARFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARL EAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAW QVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQ KYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
611	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm L	MDGSGGGSPKKRKRKVGSGGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVPKTGDSLAMA RRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDEGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLS QRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKSGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFG NPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQGSERPLTDTERATL MDEPYRKSCLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAF SLFKTDEDITGRKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADE IRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAFREYFPNFVGEPKSKDI LKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRNKEGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREW QEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLR KVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDG KPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSARFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLE NMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVD VFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAW HDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
612	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 con etiqueta HiBiT codificado por ARNm M	MDGSGGGSPKKRKRKVGSGGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVPKTGDSLAMA RRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDEGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLS QRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKSGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFG NPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQGSERPLTDTERATL

		MDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAF SLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADE IRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDI LKLRLYEQQHKGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREW QEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLR KVRAENDRHHALDAVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDG KPEFEEADTPEKLRTLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLE NMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVD VFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKEYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAW HDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFKKIS
613	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm N	MDGSGGGSPKKRKVGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMA RRLARSVRRLTRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLS QRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFG NPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAPKAANKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQQSERPLTDTERATL MDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAF SLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADE IRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDI LKLRLYEQQHKGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREW QEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLR KVRAENDRHHALDAVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDG KPEFEEADTPEKLRTLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLE NMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVD VFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKEYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAW HDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSGGGSPAAKKKKLD

614	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm O	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGV RVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDEGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLT PLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFS RKDLQAEILLLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNL RILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKD KKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGD HYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRLALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAA AKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGCLYSGKEINLVRLEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNK NQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGK GKRRV FASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSKRFBVKH NEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGLVKAVRVEKTQESGVL LNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKV EFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
615	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 con etiqueta HiBiT codificado por ARNm P	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGV RVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDEGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLT PLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFS RKDLQAEILLLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNL RILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKD KKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGD HYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRLALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAA AKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGCLYSGKEINLVRLEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNK NQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGK GKRRV FASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQP

		WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLEAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSKRFRVVKH NEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVL LNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKV EFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFKKI S
616	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm Q	MDGSGGGSEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAE VPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAE LILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQGS ERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNL SSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNT EEKIYLPPIPADEIRNPVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYF PNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEY FNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDFGKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQI TNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQ EVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLEAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSKRFRVVKHNEKISVK RVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNA YTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYI NCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
617	Secuencia de aminoácidos para editor de bases Nme2Cas9 codificado por ARNm R	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYLCYEVERLD NGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTFWISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHV RLRIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKHCWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLRAILQNQGNS GSETPGTSESATPESAAFKPNPINYILGLAIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVVPKTGDSLAMARRLARSVR RLTRRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGET

		ADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLLFEKQKEFGNPHVSGGL KEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAPKAANKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRK SKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDED ITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVL ALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQ QHGKCLYSGKEINLVRLENEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVE TSRFPRSKKQRILLQKFDEDDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDR HHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEAD TPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSARFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKN GREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDK KGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSK EQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE
618	Secuencia de aminoácidos para editor de bases Nme2Cas9 codificado por ARNm S	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGSGSGGEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYLCYEVERLD NGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHV RLRIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKHCWDTFVDHQGCPFPQWDGLDEHSQALSGRLRAILQNQGNS GSETPGTSESATPESAAFKPNPINYILGLAIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVR RLTRRRAHRLLRARLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGET ADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLLFEKQKEFGNPHVSGGL KEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAPKAANKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRK SKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDED ITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVL ALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQ QHGKCLYSGKEINLVRLENEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVE TSRFPRSKKQRILLQKFDEDDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDR

		HHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEAD TPEKLRTLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSKRFBVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKN GREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDK KGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSK EQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
619	Secuencia de aminoácidos para editor de bases Nme2Cas9 codificado por ARNm T	MEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYLCYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVP SLQLDPAQIYRVTWFIWSWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKHC WDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLRAILQNQGNSSGSETPGTSESATPESAFAFKPNPINYILGLAIGIASVGWAMV EIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRRAHRLLRARLLKREGVLQAADFENGLIKSLPNT PWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFES GHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAPKAAKN TYTAERFIWLTCLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMK AYHAISRALEKEGLKDKKSPNLSSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLME QGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRLALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEI EKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPSKSKDILKLRLYEQQHKGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSF NNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDFGKECNLNDTRYVNRFLCQ FVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDK ETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSKRFBVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQL VKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSL HKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSG KRTADGSEFESPKKKRKVE
620	Secuencia de aminoácidos para Nme2Cas9 codificado por ARNm U	MKLGSIEFIKVNKGSGSGSGAPESATESGGTSTESEGSAGTSTESEGSAGSAGSTSTEEGTSTESEGSAGTSTESEGSAG TSESATESGGTSTESEGSSTGAFAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRFERAEVPKTGDSLAMAR

		RLARSVRRLTRRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQ RKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAEILLFEKQKEFGN PHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTCLNLRILEQQSERPLTDTERATL MDEPYRKSCLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAF SLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTTEEKIYLPPIPADE IRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDI LKLRLYEQQHKGKCLYSGKEINLVRLEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREW QEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLR KVRAENDRHHALDAVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDG KPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSARFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLE NMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVD VFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAW HDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE
621	ARNm B que codifica Nme2Cas9	GGGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGACCGGUGCCGCCUUAAGCCCAACCCCA UCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAU CGACGAGGAGGA GAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCC CUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGGCGGCUGACCCGGCGGGCGGGCCACCGGCUGCUGCGG GCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUC AAGUCCC UGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGGCCGCCGCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGU GCUGCUGCACCUGAUC AAGCACCGGGGCUACCUGUCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGC UGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACACGCCACGCCUGCAGACCGGCGACUUC CGGACCCCCGCCGA GCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUC CGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCACACCUUCU CCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCC GGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGA

		AGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUC AUCUGGCUGACCAAGCUGAACCAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCG GGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGG AGGACACCGCCUUCUUAAGGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUUGGAGAUGAAG GCCUACCACGCCAUCUCCCGGGGCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCUC CGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCUGUUAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGG ACCGGGUGCAGCCCGAGAUCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCCUCCUG AAGGCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACG GCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUUCUACCUGCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACC CCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGC CCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGG AGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCC AAGUCCAAGGACAUCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAU CAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACG ACUCCUUAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAAGGGCAACCAGACCCCUACGAGUACU UCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUAAGGCCCGGGUGGAGACCUCGCGGUUCCCCCGGUCC AAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUA CGUGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUC GCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACC GGCACCACGCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGU GCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGA CCCACUUCCCCCAGCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAG CCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGA GGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCUGUUCGUGUCCCGGGGCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCACAAGG
--	--	---

		ACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAG AUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUUCGAGCUGUACGAGGCCCUCAA GGCCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGG GCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGC CUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACC AGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUAC CGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUUCUCCUGCACAGUACGACCUGAUCGCCUUCAGAGGACGAGAAG UCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAA GGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCAGAGUACCAGGUGAACGAGC UGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGGAAAGCGGACCGCCGACGG CUCCGAGUUCGAGUCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGA GUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCC UAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAAG GUAAAAAAAAAAAAAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUAAA AAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAAUCUAG
622	ARNm C que codifica Nme2Cas9	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGACCGGUGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCA UCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUUCGACGAGGAGGA GAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCC CUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGGCCCGGUCCGUGCGGGCGGCUGACCCGGCGGGCGGGGCCACCGGCUGCUGCGG GCCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCUAGUCCC UGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGU GCUGCUGCACCUGAUCUAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGC UGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCACGCCUGCAGACCGGGCGACUUCGGACCCCCGCCGA GCUGGGCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCACACCUUCU

		CCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCC GGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGA AGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUC AUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCG GGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGGCCUGG AGGACACCGCCUUCUUAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAG GCCUACCACGCCAUCUCCCGGGGCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCUC CGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCUGUUAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGG ACCGGGUGCAGCCCGAGAUCUGGAGGGCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCUG AAGGCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACG GCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACC CCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCAGGCCCGGAAGGUGAUAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGC CCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGG AGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCGCGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCC AAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAU CAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACG ACUCCUUAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACU UCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCC AAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUA CGUGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUC GCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACC GGCACACGCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGU GCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGA CCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAG
--	--	--

		CCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGA GGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCACAAGG ACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAG AUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCUGAA GGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGG GCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGC CUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACC AGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUAC CGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUUCUCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCAGAAAGGACGAGAAG UCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAA GGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGC UGGGCAAGGAGAUCCGGCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGGAAAGCGGACCGCCGACGG CUCCGAGUUCGAGUCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGA GUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUUAACUUAUACAAAUGUUGUCCCCCAAAUAGCCAUUCGUAUCUGCUCC UAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAUUGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAAG GUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUAAA AAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAAGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAA AAAAAACAAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAA CCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAAAGUUAAAAAA
623	ARNm D que codifica Nme2Cas9	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGACCGGUGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCA UCAACUACAUCUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUUCGACGAGGAGGA GAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCC CUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGGCGGCUGACCCGGCGGGCGGGCCACCGGCUGCUGCGG GCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCC

		UGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGU GCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGC UGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACACGCCACGCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCGA GCUGGCCCUGAACAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCACACCUUCU CCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCC GGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGA AGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUC AUCUGGCUGACCAAGCUGAACAAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCG GGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGG AGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAG GCCUACCACGCCAUCUCCCGGGGCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCUC CGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGG ACCGGGUGCAGCCCGAGAUCUCCUGGAGGCCUGCUGAAGCACAUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCCUCCUG AAGGCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACG GCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUUCUACCUGCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACC CCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGC CCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGG AGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCC AAGUCCAAGGACAUCUUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAU CAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACG ACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAAGGGCAACCAGACCCCUACGAGUACU UCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCGCGGUCCCCCGGUCC AAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUA CGUGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUC
--	--	---

		GCCUCCAACGGCCAGAUACCAACCUUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACC GGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGU GCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGA CCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAG CCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGA GGCCGUGCAGAGUACGUGACCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGG ACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAG AUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUUCGAGCUGUACGAGGCCUGAA GGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGG GCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGC CUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACC AGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUAC CGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUC CAGAAGGACGAGAAG UCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAA GGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUC CGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGC UGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCCGUGCGGUCCGGAAGCGGACCGCCGACGG CUCCGAGUUCGAGUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGA GUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUUCACUUAUACAAAUGUUGUCCCCCAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCC UAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAUCUAG
624	ARNm E que codifica el editor de base SpyCas9	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGAGGCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGG CACCUGAUGGACCCCCACAUCUUCACCUCCAACUUCAACAACGGCAUCGGCCGGCACAAGACCUACCUGUGCUAC GAGGUGGAGCGGCUGGACAACGGCACCUC CGUGAAGAUGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGCACAACCAGGCCAA GAACCUGCUGUGCGGCUUCUACGGCCGGCACGCCGAGCUGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCCUCCUGCAGCUG

		GACCCCGCCCAGAUCAACCGGGUGACCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCUGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCGGCG AGGUGCGGGCCUCCUGCAGGAGAACACCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUACGACUACGAC CCCCUGUACAAGGAGGCCUGCAGAUUGCUGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUGUCCAUCAUGACCUACGACGAGUU CAAGCACUGCUGGGACACCUUCGUGGACCACCAGGGCUGCCCCUCCAGCCCUGGGACGGCCUGGACGAGCACU CCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUGCGGGCCAUCUGCAGAACCAGGGCAACUCCGGCUCCGAGACCCCCGGCAC UCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGACAAGAAGUACUCCAUCGGCCUGGCCAUCCGGCACCAACUCCGUGGGCUG GGCCGUGAUCACCGACGAGUACAAGGUGCCCUCCAAGAAGUUAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGCACUCCA UCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCCCUGCUGUUCGACUCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGGACC GCCC GGCGGGCGGUACACCCGGCGGAAGAACC GGAUCUGCUACCUGCAGGAGAU CUUCUCCAACGAGAUGGCCAA GGUGGACGACUCCUUCUCCACCGGCUGGAGGAGUCCUUCUCCUGGUGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACC CCAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUGGCCUACCACGAGAAGUACCCCAACCAUCUACCACCUGCGGAAGAAGC UGGUGGACUCCACCGACAAGGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUGGCCCUUGGCCACAUGAUCAAGUUCGGGGC CACUUCUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCCGACAACUCCGACGUGGACAAGCUGUUAUCCAGCUGGUGCAGAC CUACAACCAGCUGUUCGAGGAGAACCCCAUCAACGCCUCCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUCCUGUCCGCCCGGC UGUCCAAGUCCCGGCGGCUGGAGAACCUGAUCGCCCAGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAAC CUGAUCGCCCUGUCCUGGGCCUGACCCCCAACUUAAGUCCAACUUCGACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCA GCUGUCCAAGGACACCUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCCAGAUCGGCGACCAGUACGCCGACCUGU UCCUGGCCGCCAAGAACCUGUCCGACGCCAUCCUGCUGUCCGACAUCUCCUGCGGGUGAACACCGAGAUACCAAG GCCCCCUGUCCGCCUCCAUGAUCAAGCGGUACGACGAGCACCAACAGGACCUGACCCUGCUGAAGGCCCUUGU GCGGCAGCAGCUGCCCGAGAAGUACAAGGAGAU CUUCUUCGACCAGUCCAAGAACGGCUACGCCGGCUACAUCG ACGGCGGGCGCCUCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUAUCAAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACCGAGGAG CUGCUGGUGAAGCUGAACCGGGAGGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACCUUCGACAACGGCUCCAUCCCCACCA GAUCCACCUGGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGCGGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCCUCCUGAAGGACAACCGGG AGAAGAUCGAGAAGAUCUGACCUUCCGGAUCCCCUACUACGUGGGCCCCUGGCCCGGGGCAACUCCCGGUUC
--	--	---

		GCCUGGAUGACCCGGAAGUCCGAGGAGACCAUCACCCCCUGGAACUUCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCGCCUC CGCCCAGUCCUUCAUCGAGCGGAUGACCAACUUCGACAAGAACCUGCCCCAACGAGAAGGUGCUGCCCCAAGCACUC CCUGCUGUACGAGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGACCAAGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGCGGAAGC CCGCCUUCCUGUCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACCAACCGGAAGGUGACCGUG AAGCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACUCCGUGGAGAUCUCCGGCGUGGAGGACCG GUUCAACGCCUCCCUGGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGA GAACGAGGACAUCCUGGAGGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUGUUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGCGGC UGAAGACCUACGCCCACCUGUUCGACGACAAGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCGGUACACCGGCUGGGGC CGGCUGUCCCGGAAGCUGAUAACGGCAUCCGGGACAAGCAGUCCGGCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGAAGUC CGACGGCUUCGCCAACCGGAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACUCCCUGACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAA GGCCCAGGUGUCCGGCCAGGGCGACUCCCUGCACGAGCACAUCGCCAACCUGGCCGGCUCCCCGCCAUCAAGA AGGGCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGGCACAAGCCCCGAGAACAUC GUGAUCGAGAUGGCCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACUCCCGGGAGCGGAUGAAGCGGAU CGAGGAGGGCAUCAAGGAGCUGGGCUCCAGAUCCUGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACG AGAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCCGGGACAUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUCAACCGGCUG UCCGACUACGACGUGGACCACAUCGUGCCCCAGUCCUUCCUGAAGGACGACUCCAUCGACAACAAGGUGCUGAC CCGGUCCGACAAGAACCGGGGCAAGUCCGACAACGUGCCCUCCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAUGAAGAACUACU GGCGGCAGCUGCUGAACGCCAAGCUGAUCACCCAGCGGAAGUUCGACAACCUGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGC CUGUCCGAGCUGGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACCCGGCAGAUACCAAGCACGUGGC CCAGAUCCUGGACUCCCGGAUGAACACCAAGUACGACGAGAACGACAAGCUGAUCCGGGAGGUGAAGGUGAUCA CCCUGAAGUCCAAGCUGGUGUCCGACUUCCGGAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUGCGGGAGAUCAACAACUAC CACCACGCCCACGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGUC CGAGUUCGUGUACGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUCGCCAAGUCCGAGCAGGAGAUCGGCA AGGCCACCGCCAAGUACUUCUUCUACUCCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUGGCCAACGGCG
--	--	---

		AGAUCCGGAAGCGGCCCCUGAUCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGGGACAAGGGCCGGGACUUC GCCACCGUGCGGAAGGUGCUGUCCAUGCCCCAGGUGAACAUUCGUGAAGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGCUU CUCCAAGGAGUCCAUCCUGCCCAAGCGGAACUCCGACAAGCUGAUCGCCCCGGAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAA GUACGGCGGCUUCGACUCCCCACCGUGGCCUACUCCGUGCUGGUGGGCCAAGGUGGAGAAGGGCAAGUCC AAGAAGCUGAAGUCCGUGAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGUCCUCCUUCGAGAAGAACCCCAU CGACUCCUGGAGGCCAAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCAAGUACUCCUGU UCGAGCUGGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGCUGGCCUCCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCCU GCCCUCCAAGUACGUGAACUCCUGUACCUGGCCUCCCACUACGAGAAGCUGAAGGGCUCCCCCGAGGACAACG AGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGAGCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUAUCGAGCAGAUCUCCGAGUUCUCC AAGCGGGUGAUCCUGGCCGACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGUCCGCCUACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAU CCGGGAGCAGGCCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCACCCUGACCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCUUCAAGUACU UCGACACCACCAUCGACCGGAAGCGGUACACCUCCACCAAGGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCCACCAGUCCA UCACCGGCCUGUACGAGACCCGGAUCGACCUGUCCCAGCUGGGCGGCGACGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAG CGGAAGGUGUGACUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUACACUU UACAAAUGUUGUCCCCCAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCG AGAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAAACAUAA AAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAA AAAAAUGUAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACAAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAA AUCGAAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCAAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGA AAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAAUCUAG
625	ARNm G que codifica UGI	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGACCAACCUGUCCGACAUCAUCGAGAAGG AGACCGGCAAGCAGCUGGUGAUCCAGGAGUCCAUCCUGAUGCUGCCCGAGGAGGUGGAGGAGGUGAUCGGCAAC AAGCCCGAGUCCGACAUCUGGUGCACACCGCCUACGACGAGUCCACCGACGAGAACGUGAUGCUGCUGACCUC CGACGCCCCCGAGUACAAGCCUGGGCCCUGGUGAUCCAGGACUCCAACGGCGAGAACAAGAUCAAGAUGCUGU

		CCGGCGGCUCCAAGCGGACCGCCGACGGCUCCGAGUUCGAGUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGUGAUAG CUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGU CCCCCAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAA AUGGAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAUUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAACGA AAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAUGUAAAAA AAAAAAGGGAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAUUGCAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAA AAUUCUAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGU UAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAUUCUAG
626	ARNm H que codifica Nme2Cas9	GGGaagctcagaataaacgctcaacttggccggatctgccacCATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCTGGGCCTG GACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGAC CTGGGCGTGCGGGTGTTGAGCGGGCCGAGGTGCCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGC CCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGGCGGCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAG GCGGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCCTGCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGG GCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGC TACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAAC AACGCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCC GGCCACATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTCCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTG CTGTTGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTG ATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAG CCAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTCTGCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGG AGCAGGGCTCCGAGCGGCCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGC TGACCTACGCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGG ACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCC TGAAGGACAAGAAGTCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAA

		GACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACAT CTCCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGG TACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCC CCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGGCCCTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCG TGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACC GGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCAAGTTCGGGGAGTAC TTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGT GCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGC CCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAA CCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACCTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGAC CTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAAC CTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTGACCGGCAAGGGCA AGCGGCGGGTGTTGCGCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCA CCCGGTTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCA CCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCCGGCAAGCCCGAC GGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGG CCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCGCCAC AAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACC GAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAAC TACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCCTGA AGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTCTACAAGAAGG GCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGCCT ACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAGTCCGGCGGGCGGCTCCC CCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTCCGGCGGCTCCGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGT
--	--	--

		GGCCGAGAACATCCTGCCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGC ACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACTCC TCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACC TGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCC CCGTGCCGTAGCTAGCaccagcctcaagaacacccgaatggagctcttaagctacataataccaacttacactttacaaaatgttgtccccaaaatgtagccat tcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttcttcacattctCTCGAGAAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAAGGTA AAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAAAAAACTCAAAAAA AAAAAGATAAAAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAAAAAGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAA CACAAAAAAAAAAAAATGAAAAAAAAAAAAATCGAAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCCAAA AAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAAAAAAAGTTAAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAAAAATTTAAAAAAA AAAAT
627	ARNm I que codifica Nme2Cas9	GGGagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCATGGTGCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGCCGCCTTCAAGCCCAA CCCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAG GAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCAAGACCGGCGACTCC CTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCACCGGCTGCTGCGGG CCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCCTGC CCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGC TGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCG CCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACACGCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCC TGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAGGA CCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAA GGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCA CTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTTCATCTGGCTGACCAAG CTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGAC

		GAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCCTTCTTCA AGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCC GGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGACGAGATCG GCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGACGAGGACATCACC GGCCGGCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCT GGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCC CTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTACGGCAAGAAGAACACC GAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCCAG GCCCCGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGGA GGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGG CCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCT GTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTA CGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTGCTGGGC TCCGAGAACCAGAACAAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACCTCCCGGGAGTGGCAGG AGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGA GGACGGCTTCAAGGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCAC ATCCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCT GGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACC GTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACA AGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGAT CCGGGTGTTCCGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCGAGAAGCTGCGGACCCTGCT GGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTTCGTGTCCCGGGCCCCCAA CCGGAAGATGTCCGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCC GTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGA ACTACAAGAACGGCCGGGAG ATCGAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAG
--	--	---

		GACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAGTCCGGCGTG CTGCTGAACAAGAAGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGG ACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCTGCCCGACAT CGACTGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCC AGAAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGC CTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAG GTGAACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCCGTGCGGTACCCCTACGACGTG CCCGACTACGCCGCCGCCCGCCGCCAAGAAGAAGAAGCTGGACTAGCTAGCaccagcctcaagaacacccgaatggagtctct aagctacataataccaacttacactttacaaaatgttgtccccaaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttcttcacattctCTCGAGAAAAAAA AAAAATGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAAAA CGAAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAAAAAACTCAAAAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAAAATGTAAA AAAAAAAAAAGGAAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAAAACAAAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAAAAAAAATCGAAAAAAA AAAAATCTAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAAAAAAAG TTAAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAAAAATTTAAAAAAAAAAAAAT
628	ARNm J que codifica Nme2Cas9	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGUGCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAG GACAAGCGGCCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGAUGGCCGCCUUCAAGCCCAACCC CAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGGUGGGCCAUGGUGGAGAUUCGACGAGGAG GAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACU CCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGGCCACCGGCUGCUGC GGGCCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUC CCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCC GUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGA GCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACACGCCACGCCUUGCAGACCGGCGACUUCGGGACCCCCGCC GAGCUGGCCCUGAACAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCACACCUU

		CUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGU CCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCA GAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGU UCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAG CGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCU GGAGGACACCGCCUUCUUAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGA AGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCC UCCGAGCUGCAGGACGAGAUCCGGCACCGCCUUCUCCUGUUAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAA GGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCUGCUGAAGCACAUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCCCC UGAAGGCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUUA CGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCAUCCCGCCGACGAGAUCCGGAA CCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCAGGCCCGGAAGGUGAUAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCC GCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCA GGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGC CCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAG AUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGA CGACUCCUUAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAAGGGCAACCAGACCCCUACGAGUA CUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUAAGGCCCGGGUGGAGACCUCGCGGUCCCCCGGU CCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGG UACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGU UCGCCUCCAACGGCCAGAUACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGA CCGGCACACGCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUACCCGGUUC GUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAA GACCCACUCCCCCAGCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCA
--	--	---

		AGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCC GAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAA GGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCG AGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUUCGAGCUGUACGAGGCCUG AAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAA GGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAAC GCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAA CCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCU ACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCUGGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCGAGAAGGACGAGA AGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGAC AAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGA GCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCC ACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGUACCCCUACGACGUGCCCGACUACGCCGGCUACCCCUACGAC GUGCCCGACUACGCCGGCUCCUACCCCUACGACGUGCCCGACUACGCCGCCGCCCGCCGCCAAGAAGAAGAA GCUGGACUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUUAACACUUUA CAAAUGUUGUCCCCCAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUGA GAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAAAAAAAAAAAAACAUAAA AAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAA AAAAUGUAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACAAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAA UCGAAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCAAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAA AAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAUCUAG
629	ARNm K que codifica Nme2Cas9	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccgatctgccacCatggccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcacgcctccgt gggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggcccaggtgcccaagaccggcgactccc tggccatggcccgcggtggcccggtccgtgcggcggtgaccggcgcggtggccaccggctgctgcgggccggcggtgctgaagcgggagggcggtgctgcag

		gccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtcctgcccaacaccccctggcagctgcgggccgcccctggaccggaagctgacccccctggagtgtccgcc gtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgtgaagggcgtggccaaca acgcccacgccctgcagaccggcgacttcggacccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtcgggccacatccggaaccagcggggcgactactcc cacaccttctcccgaaggacctgcaggccgagctgatcctgtgttcgagaagcagaaggagttcggcaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgag accctgtgatgaccagcggccccccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgtggggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacaccta caccgccgagcgggtcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcggggccacctgatggacg agccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggccccggaagctgctgggctggaggacaccgccttctcaagggcctgcggtaggcaaggacaacgccgag gcctccacctgatggagatgaaggcctaccacgccatctccggggcctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcag gacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccctgtgaagcacatc tccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccccctgatggagcagggcaagcggtagcagaggcctgcgccgagatctacggcgacc actacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggccccggaagggtg atcaacggcgtggtgcggcggtagcggctccccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggc aggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttcccaactcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggct gtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggtacgtggagatcgaccacgccctgcccttctcccg gacctgggacgactccttcaacaacaagggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggaaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactccc gggagtggcaggagttaaggccccgggtggagacctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgtgcagaagttcgacgaggacggcttaaggagtgc acctgaacgacacccggtacgtgaaccggttctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgtgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatc accaacctgtgcggggcttctggggcctgcggaagggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgtccaccgtggccatgcag cagaagatcaccgggtcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagaccacttccccca gccctgggagtcttcgccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgt ggccgagaagctgtcctcccgccccgagccgtgcacgagtagctgacccccctgttctgttcccgggcccccaaccggaagatgtccggcgccacaaggacacct gcggtccgccaagcgggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaaga acggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggccccggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgacccaaggacaaccccttctacaagaa gggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagaccaggagtccggcgtgctgtctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtg
--	--	---

		cgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccacatcgactgca agggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatgccttcagaaggacgagaagtccaaggtggagttgcctactacatcaa ctgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctgggtgctgatccagaagtaccagg tgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggcccccgtgaggTCCGGAAAGCGGACCGCCGACGGCTCCGGAGGA GGAAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGtagctagcaccagcctcaagaacacccgaatggagtctctaagctacataataccaacttacactttacaa aatgtgtccccaaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttcttcacattctctcgagAAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAAAAACGG AAAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGTAAAAAA AAAAACTCAAAAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAAAC GCAAAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAAAAAAAATCGAAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAAAAAACGAAAA AAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAAAAAAAGTTAAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAAAA AATTTAAAAAAAAAAAAAT
630	ARNm L que codifica Nme2Cas9	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCatgGACGGCTCCGGCGGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGT GGGCGGCTCCGGCGGGCGGCgccgcctcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcgccatgcctccgtgggctgggcatggtggag atcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcggggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccgcggt ggcccggtccgtgcggcggtgacccggcgcgggcccacgggtgctgcggggcccgcggtgctgaagcgggagggcggtgctgcaggccgcccacttcgacgag aacggcctgatcaagtccctgcccacacccctggcagctgcgggcccgcgcctggaccggaagctgacccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatca agcaccggggctacctgtcccagcgaagaacgagggcgagaccgcccgaagaagagctgggcgccctgctgaagggcggtggccaacaacgcccacgcccgtcag accggcgacttccggaccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtcggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccgaa ggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggaacccccacgtgtccggcgccctgaaggagggcatcgagacctgctgatgacca gcggcccgcctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggcccactgcacctcgagcccgcgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgcccagcggttca tctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccctgaccgacaccgagcggggccaccctgatggacgagccctaccggaagtcc aagctgacctacgcccaggcccgaagctgctgggcctggaggacaccgccttctcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgcccagggcctccaccctgatgga gatgaaggcctaccacgccatctccggggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccg ccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgc

		agatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccctgatggagcagggcaagcggtagcagagggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaac accgaggagaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatccggaaccccggtggtgctgcggggccctgtcccaggccccgaaggtgatcaacggcggtggtgcgg cggtagcggctccccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtcctcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaa ggaccgggagaaggccgcccaagttccgggagtagtctcccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacg gcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctgggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctccggacctgggacgactcctc aacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttca aggccccgggtggagacctcccggtcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgaacctgaacgacacccggt acgtgaaccggttctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggc ttctggggcctgcggaaggtgcgggcccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgtccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttc gtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagaccacttccccagccctgggagttcttcgcc caggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgcggaagcccagttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctc ccggccccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacacctgcggtccgccaagcggtt cgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgag ctgtacgagggccctgaaggcccggtggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccctcgaccccaaggacaaccccttctacaagaagggcgggccagctggtga aggccgtgcgggtggagaagaccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgtctgc aaggtggacaagaagggaagaaccagtagtctcatcgtgccatctacgcctggcagggtggccgagaacatcctgccgacatcgactgcaagggtaccggatcgac gactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatgccttcagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgccctactacatcaactgcgactcctccaacgg ccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctcaccacagaacctgggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaag gagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgctgcggtagctagcaccagcctcaagaacacccgaatggagttcttaagctacataataccaacttacacttta caaaatgttgtcccccaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttcttcacattctctcgagAAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAAAAAC GGAAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGTAAAA AAAAAAAAACTCAAAAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAA AACGCAAAAAAAAAAAAAACAAAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAAAAAAAATCGAAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAAAAAACGA AAAAAAAAAAAAACCAAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAAAAAAAGTTAAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAA
--	--	---

		AAAAATTTAAAAAAAAAAAAAT
631	ARNm M que codifica Nme2Cas9 con una etiqueta HiBiT	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGGCUCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGGCGGCUCCGGCGGCGGGCGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCU GGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAU CGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUC GACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGGCGGC UGGCCCGGUCCGUGCGGGCGGCUGACCCGGCGGGCGGGCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGGCGGCUGCUGAAGC GGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAG CUGCGGGCCGCCGCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGC ACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGGCGCCCUGCUGAAGGG CGUGGCCAACAACGCCCACGCCUGCAGACCGGGCGACUUCGGACCCCCGCCGAGCUGGGCCUGAACAAGUUCG AGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCC GAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAU CGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCU UCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAAC AACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCC CUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUAAGG GCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGG GCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAU CGG CACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUC UGGAGGCCUGCUGAAGCACAUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCUGAAGGCCUGCGGCGGAUCGUG CCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAA CACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGU CCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGGCGGUACGGCUCCCCCGCCGGAUCCACAUCGAGACCGC CCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGG

		GAGAAGGCCGCGCCAAGUUCGCGGAGUACUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAA GCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACG AGAAGGGCUACGUGGAGAU CGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUG CUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUAACGGCAAGGACAACUCC CGGGAGUGGCAGGAGUUAAGGCCCGGGUGGAGACCUCGCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGC UGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGC CAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUAC CAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCC GUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUACCCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGC CUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGG AGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGA CACCCCGGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGA CCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAG CGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCCUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGA GAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAU CGAGCUGUACGAGGCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACG GCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCC GUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAAGGCCUACACCAUCGCCGACAACGG CGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUAUCGUGCCCAUCU ACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACC UUCUGCUUCUCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUA CUACAUAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGU UCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCGGGCC UGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGU UCAAGAAGAUCUCCUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUAC
--	--	---

		ACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAUUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUCUUCU CUCGAGAAAAAAAAAAAAUUGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUUAUAAAAAAAAAAAAAC AUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAA AAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAAAACAAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAA AAAAAUCGAAAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAA UAGAAAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAAUCUAG
632	ARNm N que codifica Nme2Cas9	GGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGGCGGCUCUCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGGCGGCUCUCCGGCGGGCGGCGCCGCCUUAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCUCCUGGGCCU GGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGGCUGAUC GACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGGC UGGCCCGGUCCGUGCGGGCGGCUGACCCGGCGGGCGGGCCACCGGCUGCUGCGGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGC GGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAG CUGCGGGCCGCCGCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUAAGC ACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGG CGUGGCCAACAAACGCCCACGCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCG AGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCC GAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGGCCUGAAGGAGGGCAU CGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCU UCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAAC AACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCC CUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUAAGG GCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGG GCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCCG CACCGCCUUCUCCUGUUAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUC

		UGGAGGCCCUUGCUGAAGCACAUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCCCUGAAGGCCCUGCGGC GGAUCGUG CCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAU CUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAA CACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGU CCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGGCGGUACGGCUC CCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGC CCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAU CGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGG GAGAAGGCCGCCGCAAGUUCGGGAGUACU UCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUC CUGAA GCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACG AGAAGGGCUACGUGGAGAU CGACCACGCCCUGCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUG CUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUAACGGCAAGGACAACUCC CGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUC CCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGC UGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGC CAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAU CAC CAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCU GGACGCC GUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAU CACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAU GAACGC CUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACU UCCCCCAGCCCUGGG AGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGA CACCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGA CCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAG CGGUUCGUGAAGCACAAACGAGAAGAUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGA GAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAU CGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACG GCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCC GUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGG CGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUAUCGUGCCCAUCU ACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUC CCGGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACC
--	--	---

		UUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUA CUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGU UCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCC UGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCGUGCGGUCCGGAAAGCGGACCGCCGACGGCUCCGGAGGAGGAAGCCCCG CCGCCAAGAAGAAGAAGCUGGACUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAU ACCAACUUACACUUUACAAAUGUUGUCCCCCAAAUGUAGCCAUUCGUUUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUC UUCACAUUCUCUCGAGAAAAAUAUGGAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAUAUAA AAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAGAUAAAAAAAA AAAACCUAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAA UGCAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAACCAAAAAAAAAAAGACAA AAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAUUCUAG
633	ARNm O que codifica Nme2Cas9	GGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAGGGCGG CUCCGGCGGCGGCGCCGCCUUAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCG UGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUU CGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGGCGG CUGACCCGGCGGCGGGCCACCGGCUGCUGCGGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCC GCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUAAGUCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUGGA CCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUAAGCACCGGGGCUACCUGUCCAGC GGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCACGCC CUGCAGACCGGCGACUUCGGACCCCGCCGAGCUGGCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCGG GAACCAGCGGGGCGACUACUCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGA AGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAG CGGCCCGCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG

		CCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAG GGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGAC CUACGCCCAGGCCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACA ACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUG AAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAA GACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCUUGGAGGCCCUGCUGAAGCACA UCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAG CGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCU GCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCAGGCCCGGAAGGUGAUC AACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCU UCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCAAGUUC CGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCA GCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUAACCUUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCG ACCACGCCCUGCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAAC CAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAG GCCCCGGGUGGAGACCUCCTGGUUCCTCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACG GCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUC CUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUACCAACCUGCUGCGGGGCUUCU GGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCAC CGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUAACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCG ACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCTCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCAGGAGGUG AUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCTCCGAGAAGCUGCGGAC CCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCTCCCUGUUCGUGUCCCGG GCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGA
--	--	---

		GAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGA ACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCGUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGC CUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCC AGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGAC GUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGA GAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAA GUACGACCUGAUCGCCUUCGAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUAACUGCGACUCCU CCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAAC CUGGUGCUGAUCGAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCC CCCCGUGCGGUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUUAACU UUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUC GAGAAAAAAAAAAAAUUGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAAACAUA AAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAA AAAAAUGUAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAAAACAAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAA AUCGAAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCAAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGA AAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAAUCUAG
634	ARNm P que codifica Nme2Cas9 con etiqueta HiBiT	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGG CUCCGGCGGCGGCGCGCCUUAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCG UGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUU CGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGGCGG CUGACCCGGCGGCGGGCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCC GCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUAAGUCCUGCCCAACACCCCUUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUGGA CCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUAAGCACCGGGGCUACCUGUCCAGC

		GGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAAACGCCCACGCC CUGCAGACCGGCGACUUCGCGACCCCCGCCGAGCUGGGCCUGAACAAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCG GAACCAGCGGGGCGACUACUCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGA AGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGGCCUGAAGGAGGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAG CGGCCCCGCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAAACCUGCGGAUCCUGGAGCAG GGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGAC CUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACA ACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUG AAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCUGUUA GACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCUUGGAGGCCUUGCUGAAGCACA UCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCCUUGAAGGCCUGCGGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAG CGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUACGCGGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUUACCU GCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCAGGCCCGGAAGGUGAUC AACGGCGUGGUGCGGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCU UCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCAGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCAAGUUC CGGGAGUACUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCA GCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUAACCUUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCG ACCACGCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAAC CAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUAAG GCCCCGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACG GCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUC CUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCU GGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCAC
--	--	--

		CGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCG ACAAGGAGACCCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUG AUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGAC CCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGG GCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGA GAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGA ACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGC CUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCC AGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGAC GUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGA GAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCUGCACAA GUACGACCUGAUCGCCUUCGAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUAACUGCGACUCCU CCAACGGCCGGUUCUACCUUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCGGGAUCUCCACCCAGAAC CUGGUGCUGAUCGAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCGGGCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCC CCCCUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGUUAAGAAGAUCUCCUAGCUA GCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUAUACCAACUUAACAUUUACAAAAUGUUGUCC CCAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAAUG GAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAA AAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAA AAAAGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACAAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAA UCUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCAAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAAAGUUA AAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAAUUAAAAAAAAAAAAAUCUAG
635	ARNm Q que codifica Nme2Cas9	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGGCGGCUCCGGCGGCGGCCGUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCUGGGCCU

		GGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUC GACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCCGGCGGC UGGCCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCCGGCGGCUGCUGAAGC GGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAG CUGCGGGCCGCCGCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGC ACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGG CGUGGCCAACAAACGCCCACGCCUGCAGACCGGCGACUUCGAGCCCCCGCCGAGCUGGGCCUGAACAAAGUUCG AGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCC GAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAU CGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCU UCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAAC AACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCC CUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUAAGG GCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGG GCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCCG CACCGCCUUCUCCUGUUAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCC UGGAGGCCUGCUGAAGCACAUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCUGAAGGCCUGCGGCGGAUCGUG CCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAA CACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGU CCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGC CCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGG GAGAAGGCCGCCGCAAGUUCGGGAGUACUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCUGAA GCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUAACCUGGUGCGGCUGAACG AGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCUGCCCUGCCCUGUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUAACAACAAGGUG
--	--	--

		CUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCC CGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCGCCGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGC UGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGC CAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUAC CAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCUGGACGCC GUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGC CUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGG AGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGA CACCCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGA CCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAG CGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGA GAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAU CGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACG GCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCC GUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGG CGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCU ACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACC UUCUGCUUCUCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUC CAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUA CUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGU UCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCC UGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCGUGCGGUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGC UACAUAUACCAACUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAG AAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAA AAAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAAGAU AAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAAGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACAAAAA
--	--	--

		AAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAAUUCGAAAAAAAAAAAAUUCUAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAA AAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAUUC UAG
636	ARNm R que codifica editor de base Nme2Cas9	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccgatctgccaccATGGACGGCTCCGGCGGGCGGCTCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGT GGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGGCGGCG AGGCCTCCCCCGCCTCCGGCCCCCGGCACCTGATGGACCCCCACATCTTCACCTCCAACCTTCAACAACGGCATCGG CCGGCACAAGACCTACCTGTGCTACGAGGTGGAGCGGCTGGACAACGGCACCTCCGTGAAGATGGACCAGCACCG GGGCTTCCTGCACAACCAGGCCAAGAACCTGCTGTGCGGCTTCTACGGCCGGCACGCCGAGCTGCGGTTCTTGGA CCTGGTGCCCTCCCTGCAGCTGGACCCCGCCCAGATCTACCGGGTGACCTGGTTCATCTCCTGGTCCCCCTGCTTC TCCTGGGGCTGCGCCGGCGAGGTGCGGGCCTTCCTGCAGGAGAACACCCACGTGCGGCTGCGGATCTTCGCCGCC CGGATCTACGACTACGACCCCTGTACAAGGAGGCCCTGCAGATGCTGCGGGACGCCGGCGGCCAGGTGTCCATC ATGACCTACGACGAGTTCAAGCACTGCTGGGACACCTTCGTGGACCACCAGGGCTGCCCCTTCAGCCCTGGGACG GCCTGGACGAGCACTCCCAGGCCCTGTCCGGCCGGCTGCGGGCCATCCTGCAGAACCAGGGCAACTCCGGCTCCG AGACCCCGGCACCTCCGAGTCCGCCACCCCGAGTCCGCAGCGTTCAAACCAAATcccatcaactacatcctgggcctggccatc ggcatcgctccgtgggctgggcatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggcccaggtgccaag accggcgactccctggcatggccggcggtggcccggtccgtgcggcggtgacccggcgggccaccggctgctcgggccggcggtgctgaagcggg agggcgtgctgagggccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtcctgccaacacccctggcagctgcgggcccgcctggaccggaagctgacccc ctggagtggcccgctgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgcctgctgaa gggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttcgggaccccgccgagctggcctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccag cggggcgactactcccacaccttctccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggaacccccacgtgtccggcggcctga aggagggcatcgagacctgctgatgaccagcgggccgcctgtccggcgacgccgtgcagaagatgtgggacctgcaccttcgagcccgccgagcccaaggcc gccagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcgggccctgaccgacaccgagcgggc caccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttctcaagggcctgcggtacggcaa ggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgt

		cctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcacccggccggctgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccc tgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgcccctgatggagcagggcaagcgggtacgacgaggcctgcgccgag atctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatccggaaccccggtggtgctgcgggcccctgtccca ggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcgggtacggctccccgcccggtaccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccctcaaggaccggaaggag atcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccccaagtccgggagtagtctcccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatc ctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggtacgtggagatcgaccacgc cctgcccttctccggacctgggacgactcctcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggaaccagaccccctacgagtacttcaacggc aaggacaactccccgggagtggcaggagttcaaggccccgggtggagacctccccggtccccgggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacgg cttcaaggagtgaacctgaacgacacccgggtacgtgaaccgcttctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggaagcggcggtgtgcct ccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctcca ccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaa gaccttccccagccctgggagttctcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgcagggcaagcccagttcgaggaggccgacacccccgagaa gctgcggacctgctggccgagaagctgtcctccggccccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtccggggccccaaccggaagatgtccggcgcc cacaaggacacctgcggtccgccaagcgggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacat ggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggccccggtggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgacccaaggacaa cccccttctacaagaaggggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagaccaggagtcggcggtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgac aacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgaaggtggacaagaagggaagaaccagtagtctcatcgtgccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgc ccgacatcgactgcaagggtaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatgccttcagaaggacgagaagtccaaggtggagt tcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggtttacctggcctggcacgacaagggtccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctggtgctga tccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgtgcggtccggaagcggaccgccgacggctccgagtt cgagtccccaagaagaagcgggaaggtggagtagTGActagcaccagcctcaagaacacccgaatggagtctctaagctacataataccaacttacatttcaaaaat gtgtcccccaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaagaaagttttctcacattctcTCGAGAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAAAAACGGA AAAAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAA AAACTCAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAAGGAAAAAAAAAACGCA
--	--	---

		AAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAAAAAAAATCGAAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAAAAAACGAAAAAA AAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAAAAAAAGTTAAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAAAAAT TTAATAAAAAAAAAAAT
637	ARNm S que codifica editor de base Nme2Cas9	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGG CUCCGGCGGCGGCGAGGCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGGCACCUGAUGGACCCCCACAUCUUCACCUCCAACU UCAACAACGGCAUCGGCCGGCACAAGACCUACCUGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUGGACAACGGCACCUCCGUG AAGAUGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGCACAACCAGGCCAAGAACCUGCUGUGCGGCUUCUACGGCCGGCACGC CGAGCUGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCCUCCUGCAGCUGGACCCCGCCAGAUCUACCGGGUGACCUGGUUC AUCUCCUGGUCCCCUGCUUCUCCUGGGGCGUGCGCCGGCGAGGUGCGGGCCUUCUGCAGGAGAACACCCACG UGCGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUACGACUACGACCCCCUGUACAAGGAGGCCUGCAGAUGCUGCGG GACGCCGGCGCCAGGUGUCCAUAUGACCUACGACGAGUUAAGCACUGCUGGGACACCUUCGUGGACCACCA GGGCUGCCCCUCCAGCCCUGGGACGGCCUGGACGAGCACUCCAGGCCUGUCCGGCCGGCUGCGGGCCAUC CUGCAGAACCAGGGCAACUCCGGCUCCGAGACCCCGGCACCUCGAGUCCGCCACCCCGAGUCCGCAGCGUU CAAACCAAUCCCAUCAACUACAUCUCCUGGGCCUGGCCAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGA UCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAA GACCGGCGACUCCUGGCCAUGGCCCGGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCA CCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGC CUGAUAAGUCCUGCCCAACACCCCGUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCUGGA GUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUAAGCACCGGGGCUACCUGUCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACC GCCGACAAGGAGCUGGGCGCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCACGCCUGCAGACCGGGCGACUUCGG GACCCCGCCGAGCUGGGCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCGGAACCAGCGGGGCGACUACU CCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAAC CCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCUGUCCGGCG

		ACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACC GCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGAC CGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGC UGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUG AUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCU GAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCCGGCACCGCCUUCUCCUGUUAAGACCGACGAGGACAUCACCG GCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCUGGAGGGCCUGCUGAAGCACAUUCUCCUUCGACAAGUUCGUG CAGAUCCCCUGAAGGCCUGCGGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCG CCGAGAUUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUUCUACCUGCCCCCAUCCCCGCCGACG AGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGC GGCGGUA CGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUAAGGACCGGAAGGAGAUCC AGAAGCGGCAGGAGGAGAACC GGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCAAGUUCGGGAGUACUUCCCCAACUUC GUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUC CGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCCACCACGCCUGCCCUUCUCCC GGACCUGGGACGACUCCUUAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAAGGGCAACCAGACC CCCUACGAGUACUUAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCG GUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGA ACGACACCCGGUACGUGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCUGCUGACCGGCAAGGGCAAG CGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGG CCGAGAACGACCGGCACCACGCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUC ACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCU GCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGC CCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCC UCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCG
--	--	---

		GCGCCCAACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUG UGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUA CGAGGCCCUGAAGGCCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCU UCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAA CAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGA AGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCUGCCCGACAUCGAC UGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCUGCACAGUACGACCUGAUCGCCUUCCA GAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGG CCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUAC CAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCCGUGCGGUAGUGACUAG CACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCC CAAAUUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAUGG AAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUUAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAA AAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAA GGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAAUCUAA AAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAA AAACUGAAAAAAAAAAAAAUUAAAAAAAAAAAAAUCUAG
638	ARNm T que codifica editor de base Nme2Cas9	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccaccATGGAGGCCTCCCCGCCTCCGGCCCCCGGCACCTGATGGACCC CCACATCTTCACCTCCAACCTCAACAACGGCATCGGCCGGCACAAGACCTACCTGTGCTACGAGGTGGAGCGGCTG GACAACGGCACCTCCGTGAAGATGGACCAGCACCGGGGCTTCCTGCACAACCAGGCCAAGAACCTGCTGTGCGGCT TCTACGGCCGGCACGCCGAGCTGCGGTTCTTGACCTGGTGCCCTCCCTGCAGCTGGACCCCGCCAGATCTACC GGGTGACCTGGTTCATCTCCTGGTCCCCCTGCTTCTCCTGGGGCTGCGCCGGCGAGGTGCGGGCCTTCCTGCAGG AGAACACCCACGTGCGGCTGCGGATCTTCGCCGCCGGATCTACGACTACGACCCCTGTACAAGGAGGCCCTGCA GATGCTGCGGGACGCCGGCGCCAGGTGTCCATCATGACCTACGACGAGTTCAAGCACTGCTGGGACACCTTCGTG

		GACCACCAGGGCTGCCCCCTCCAGCCCTGGGACGGCCTGGACGAGCACTCCCAGGCCCTGTCCGGCCGGCTGCGG GCCATCCTGCAGAACCAGGGCAACTCCGGCTCCGAGACCCCCGGCACCTCCGAGTCCGCCACCCCCGAGTCCGCA GCGTTCAAACCAAATcccatcaactacatcctgggcctggccatcgccatcgctccgtgggctgggcatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatcc ggctgatcgacctgggctgcgggtgttcgagcgggcccagggtgccaagaccggcgactccctggccatggccggcggctggcccgtccgtgcggcggctgacct ggcggcgggcccaccggctgtgcgggcccggcggctgtgaagcgggagggcgtgtgcaggccgcccacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgccaac acccctggcagctgcgggcccggccctggaccggaagctgacccccctggagtggctccgctgtgtgcacctgatcaagcaccggggctacctgtccagcggga agaacgagggcgagaccgcccacaaggagctgggcgcccctgtgaagggcgtggccaacaacgcccacgcccctgcagaccggcgacttcgggacccccgcccag ctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgtgtt cgagaagcagaaggagtccggcaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagacctgtgatgacctagcggcccgcctgtccggcgacgcccgtgc agaagatgtgtggccactgcaccttcgagcccgcgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgcccagcgggttcactctggctgaccaagctgaacaacctgcgg atcctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcggggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctagcccaggcccgaagc tgctgggctggaggacaccgccttctcaagggcctgcggtagcggaaggacaacgcccaggcctccacctgatggagatgaaggcctaccacgccatctccgggc cctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctcctgttcaagaccgacgaggacat caccggccggctgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccctgtgaagcacatctcctcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatc gtgcccctgatggagcagggcaagcggtagcagcaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccccca tccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgtgcgggcccctgtcccaggcccgaaggatcaacggcgtggtgcggcggtagcggctccccgcccggatccaca tcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgcccgaagtt ccgggagtacttcccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtcctgtactccggcaaggagatc aacctggtgcggctgaacgagaagggtacgtggagatcgaccacgcccctgccttctccggacctgggacgactcctcaacaacaaggtgtggtgtgggctccga gaaccagaacaagggaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttaaggccccgggtggagacctcccgttcccc cgggtccaagaagcagcggatcctgtgcagaagttcgacgaggacgggtcaaggagtgaacctgaacgacaccggtagctgaaccgcttctgtgccagttcgtgg ccgaccacatcctgtgaccggcaagggaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgtgcggggcttctggggcctgcggaagggtgcgggccg agaacgaccggcaccacgcccctggacgcccgtggtggtggcctgtccaccgtggccatgcagcagaagatcaccgggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcg acggcaagaccatcgacaaggagaccggcaagggtgtgcaccagaagaccacttccccagcccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggca
--	--	--

		agcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctccggccccgaggccgtgcacgagtacgt gacccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcgggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgt gaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggccccggctg gaggcctacggcggcaacccaagcaggccttcgacccaaggacaaccccttctacaagaaggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagaccag gagtcggcgctgctgctaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgaagggtggacaagaagggaagaacc agtacttcacgtgcccattacgcctggcaggtggccgagaacatcctgccgacatcgactgaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcac aagtacgacctgatcgccctccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgccctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcagcaciaa gggtccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaaga agcggccccccgtgcggtccggaaagcggaccgccgacggctccgagttcgagtcccccaagaagaagcggaaggtggagtagTGActagcaccagcctcaaga acacccgaatggagttcttaagctacataataaccaacttacactttacaaaatgtgtcccccaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttctcacattct cTCGAGAAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAACATA AAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAAAAAACTCAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAA AAAATGTAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAAAAAT CGAAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAATAGAAAA AAAAAAAGTTAAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAAAAATTTAAAAAAAAAAAAAT
639	ARNm U que codifica Nme2Cas9	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccgatctgccacCATGaagCTGggcTCCatcGAGttcATCaagGTGaacAAGggcTCCggcTCCg gcTCCGGCgccCCCgagTCCgccACCgagTCCggcGGCaccTCCaccGAGtccGAGggcTCCgccGGCaccTCCaccGAGtccGAGg gctccGCCggcTCCgccGGCtccaccTCCaccGAGgagGGCaccTCCaccGAGtccGAGggctccGCCggcACctccACCgagtccgagGG CtccGCCggcACctccGAGtccgccACCgagTCCggcGGCaccTCCaccGAGtccGAGggcTCCtccTCCaccgggtgccgccttcaagcccaac cccatcaactacatcctgggcctggacatcggcacgcctccgtgggctgggcatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgc gggtgttcgagcggggccgaggtgccaagaccggcgactccctggccatggccggcggtggccgggtccgtgcggcggtgacccggcgggggccaccggctg ctgccccggcgggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggcccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtcctgcccaacacccctggcagctgcgggc cgccgccctggaccggaagctgacccccctggagtggtccgctgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtccagcggaagaacgagggcgagaccg ccgacaaggagctgggcgcccgtgtaagggcgtggccaacaacgccacgcctgcagaccggcgacttccggacccccgagctggccctgaacaagttcga

		gaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagtt cggaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgaccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctggggcact gcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcgggtcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctcc gagcggccccctgaccgacaccgagcggggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgccaggcccggaagctgctgggcctggaggaca ccgccttctcaagggcctgcggtacgggaaggacaacgccgagggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggcccctggagaaggagggcc tgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcacggccggctgaagg accgggtgcagcccagatcctggaggccctgctgaagcacatctcctcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgcccctgatggagcag ggcaagcggtagcagaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatcc ggaaccccgtggtgctgcggggccctgtcccaggccccggaaggatgaacggcggtggtgcggcggtacgggtcccccgcccgatccacatcgagaccgccgggag gtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgcccgaagttccgggagttacttcccaa cttcgtgggagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaa cgagaagggtactgtgagatcgaccacgccctgcccttctccggacctgggacgactcctcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagg caaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagtcaaggccgggtggagacctcccggtcccccggtccaagaagcagc ggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggctcaaggagtgaacctgaacgacaccgggtacgtgaaccgcttctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctga ccggcaagggaagcggcggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaagggtgcgggccgagaacgaccggcacca cgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgac aaggagaccggcaagggtgctgcaccagaagacccacttccccagccctgggagttctcgccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgcaggcaagccc gagttcgaggaggccgacccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctccggccccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtccc gggcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacacctgcgggtccgccaagcgggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgacc gagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggtggaggcctacggcggcaacg ccaagcaggccttcgacccaaggacaaccccttctacaagaaggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagaccaggagtccggcgtgctgctgaac aagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgaagggtggacaagaagggaagaaccagtacttcatcgtgccatctac gcctggcaggtggccgagaacatcctgcccacatcgactgaagggtaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtagcactgatgcctcc agaaggacgagaagtccaagggtgagttcgctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggtccaaggagcagcagtt
--	--	--

		ccg gatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggcccccggtcggtccg gaaagcggaccgccgacggctccgagttcgagtcccccaagaagaagcgggaaggtggagtactagcaccagcctcaagaacacccgaatggagtcttaagctac ataataccaacttacactttacaaaatgtgtcccccaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaaagaaagtttcttcacattctcTCGAGAAAAAAAAAAAAAT GGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAAAAACGAAAA AAAAAAACGTAAAAAAAAAAAAACTCAAAAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAA AAAGGGAAA
640	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm A	atgaccggtgccgccttaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcatcgctccgtgggctgggcatggtggagatcgacgaggaggagaacc ccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggcccaggtgccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgcggcggct gaccggcggcggggccaccggctgctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgacgttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgc ccaacacccccctggcagctgcgggcccggccctggaccggaagctgacccccctggagtgtccgcctgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcca gcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgcctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgcccctgcagaccggcgacttcggacccccg ccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccgaaggacctgcaggccgagctgatcc tgctgttcgagaagcagaaggagtccggcaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgaccagcggcccgcctgtccggcgacg ccgtgcagaagatgctgggccactgcacctcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcgggtcatctggctgaccaagctgaacaac ctgaggatcctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcggggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgccaggccc ggaagctgctgggcctggaggacaccgccttctcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatct cccgggcccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttaagaccgacg aggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccctgctgaagcacatctcctcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcg gcggatcgtgccctgatggagcagggcaagcggctacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctg ccccccaccccccgacgagatccggaaccccggtgtgctgcgggcccctgtcccaggcccgaaggatcaacggcgtggtgcggcggctacggctccccgcccgg atccacatcgagaccgccgggaggtgggcaagtccctcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccc ccaagttccgggagttacttcccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaa ggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggtacgtggagatcgaccacgccctgcccttctccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgg gctccgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtactcaacggcaaggacaactccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctccg

		gttccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggctcaaggagtgaacctgaacgacacccggtacgtgaaccgcttctgtgccagt tcgtggccgaccacatctgctgaccggcaagggaagcgcggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggtggcctgcggaaggtgcg ggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacg ccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttccccagccctgggagttcttcgccaggaggtgatgatccgggtgtt cggcaagcccgcaggcaagcccgcagttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccgccccgaggccgtgcacga gtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacacccctgcggtccgccaagcgggttcgtgaagcacaacgagaagat ctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggccc ggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgacccaaggacaaccccttctacaagaagggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaaga cccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaag aaccagtacttcatcgctgccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttccct gcacaagtacgacctgatgccttcagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacg acaagggctccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctgggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctg aagaagcggcccccgctgcggtccggaaagcggaccgccgacggctccgagttcgagtccccaagaagaagcgggaaggtggagtag
641	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm B	atgaccggtgccgccttaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcgccatcgctccgtgggctgggcatggtggagatcgacgaggaggagaacc ccatccgggtgatcgacctgggctgcgggtgttcgagcgggcccaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggtgcccgggtccgtgcggcggct gacccggcgggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcggtgctgaagcgggagggcgctgctgcaggccgacacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgc ccaacacccccctggcagctgcgggcccggccctggaccggaagctgacccccctggagttggtccgctgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcca gcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgcctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgcccctgcagaccggcgacttccggacccccg ccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccgaaggacctgcaggccgagctgatcc tgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgaccagcggccccgctgtccggcgacg ccgtgcagaagatgtgggacctgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcgggtcatctggctgaccaagctgaacaac ctgaggatcctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcggggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggccc ggaagctgctgggcctggaggacaccgccttctcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggccctccacctgatggagatgaaggcctaccacgccatct ccggggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtctccgagctgcaggacgagatcgccaccgccttctccctgttcaagaccgacg

		aggacatcacggccgggtgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccctgctgaagcacatctcctcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcg gcggatcgtgcccctgatggagcagggcaagcggtagcagaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctg ccccccattcccgcgacgagatccggaaccccggtgctgcgggcccctgtcccaggcccgaaggatgaacggcggtggtgcggcggtacggctccccgcccgg atccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtcttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccc ccaagttccgggagtagtacttcccaactcgtgggagcagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaa ggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgg gctccgagaaccagaacaagggcaaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgaggtagggcaggagttaaggcccggtggagacctccg gttccccgggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttaaggagtgaacctgaacgacacccggtagctgaaccgcttctgtgccagt tcgtggccgaccacatctgctgaccggcaagggaagcggcggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctgggcccctgcggaagggtgcg ggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggtcgtgcggtacaaggagatgaacg ccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaagggtgctgcaccagaagacccacttccccagccctgggagttcttcgccaggaggtgatgatccgggtgtt cggcaagcccgcagggcaagcccagttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccgcccgaggccgtgcacga gtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacacccctgcggtccgccaagcgggttcgtgaagcacaacgagaagat ctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggccc ggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaaccccttctacaagaagggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaaga cccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgtctgcaagggtggacaagaagggcaag aaccagtacttcatcgtgcccattacgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccagatcgactgcaaggggtaccggatcgacgactcctacaccttctgcttccct gcacaagtacgacctgatgccttcagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacg acaagggctccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctg aagaagcggccccccgtgcggtccggaaagcggaccgccgacggctccgagttcgagtccccaagaagaagcgggaagggtggagtag
642	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm C	atgaccggtgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcgccatcgctccgtgggctgggcatggtggagatcgacgaggaggagaacc ccatccggctgatcgacctgggctgcgggtgttcgagcgggcccaggtgcccgaagaccggcgactccctggccatggcccgccggctggcccggtccgtgcggcggt gacccggcgggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcggtgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtcctgc ccaacacccccctggcagctgcgggcccggccctggaccggaagctgacccccctggagtggtccgctgctgctgcacctgatcaagcaccgggggtacctgtccca

		gcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcggtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggacccccg ccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtcgggccacatccggaaccagcgggcgactactcccacaccttctcccgaaggacctgcaggccgagctgatcc tgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaacccccacgtgtccggcgccctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgaccagcgggcccgccctgtccggcgacg ccgtgcagaagatgctggggcactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcattctggctgaccaagctgaacaac ctgcggatcctggagcagggctccgagcgggccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggccc ggaagctgctgggcctggaggacaccgccttctcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgagggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatct cccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcgccaccgccttctccctgttcaagaccgacg aggacatcacggccgggtgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcg gcggatcgtgcccctgatggagcagggcaagcggtagcagcagggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctg cccccatccccgccgacgagatccggaaccccggtggtgctgcgggcccctgtcccaggccccggaaggtgatcaacggcggtggtgcggcggtacggctccccgcccgg atccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccctcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgcccg ccaagttccgggagttacttcccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcagcggaagtgcctgtactccggcaa ggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggtacgtggagatcgaccacgccctgcccttctcccgacctgggacgactcctcaacaacaagggtgctggtgctgg gctccgagaaccagaacaagggcaaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgagggtggcaggagttcaaggcccggtggagacctcccg gttccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgaacctgaacgacacccggtacgtgaaccgcttctgtgccagt tcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcggtgttcgctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctgggcctgcggaagggtgcg ggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacg ccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaagggtgctgcaccagaagacccacttccccagccctgggagttcttcgccaggaggtgatgatccgggtgtt cggcaagcccgcaggcaagcccgagttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccgccccgaggccgtgcacga gtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcgggttcgtgaagcacaacgagaagat ctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggccc ggctggaggcctacggcggaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccttctacaagaagggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaaga cccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgtctgcaagggtggacaagaagggaag aaccagtacttcatcgtgcccattctacgcctggcaggtggccgagaacatctgcccgacatcgactgaagggtaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccct
--	--	---

		gcacaagtacgacctgatgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacg acaagggctccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctg aagaagcggcccccggtgcggtccggaaagcggaccgccgacggctccgagttcgagtccccaagaagaagcgggaaggtggagtag
643	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm D	atgaccggtgccgccttaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcgcatcgctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaacc ccatccggctgatcgacctgggctgcgggtgttcgagcggggccgaggtgcccaagaccggcgactccttggccatggcccgggctggccccgtccgtgcggcggt gacccggcggcggggccaccggctgctgcggggcccgcggtgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgcccacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgc ccaacacccccctggcagctgcggggccgcccctggaccggaagctgacccccctggagtggctccgcccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcca gcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggacccccg ccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcc tgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagacctgctgatgaccagcggcccgcctgtccggcgacg ccgtgcagaagatgctggggccactgcaccttcgagccccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaac ctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcggggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgccaggccc ggaagctgctgggcctggaggacaccgccttctcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatct cccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacg aggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcg gcggatcgtcccctgatggagcagggcaagcgggtacgacgaggcctgcgcccagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctg cccccatccccgccgacgagatccggaacccccgtggtgctgcggggccctgtcccaggccccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctccccgccccg atccacatcgagaccgccccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccg ccaagttccgggagttctcccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgccgttactccggcaa ggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctcccgacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgg gctccgagaaccagaacaagggcaaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactccccgggagtggcaggagttcaaggccccgggtggagacctccc gttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgaacctgaacgacacccgggtacgtgaaccgcttctgtgccagt tcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgtgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcg ggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcaccgggttcgtgcggtacaaggagatgaacg

		ccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgtt cggaagcccgcagggcaagcccgcagttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaacctgctggccgagaagctgtctcccgcccgaggccgtgcacga gtacgtgacccccctgttcgtgtcccggtcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacacctgcggtccgccaagcgggttcgtgaagcacaacgagaagat ctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggccc ggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgacccaaggacaaccccttctacaagaagggcgccagctggtgaaggccgtgcggttgagaaga cccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcggttgacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaag aaccagtacttcatcgtgcccattacgcctggcaggtggccgagaacatctgcccgcacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgttctccct gcacaagtacgacctgatgccttcagaaggacgagaagtccaaggtggagttgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacg acaagggctccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctg aagaagcggcccccgctgcggtccggaaagcggaccgccgacggctccgagttcgagtccccaagaagaacggaaggtggagtag
644	Marco de lectura abierto para el editor de base SpyCas9 codificado por ARNm E	ATGgaggcctccccgcctccggcccccgacactgatggacccccacatcttcacctccAACTTCAACAACggcATCggccggCACAAAGaccTACCT GTGCTACgaggtggagcggCTGGACAACggcacctccgtgAAGATGGACCAGCACgggggcTTCCTGCACAACCAGgccAAGAACC TGCTGTGCggcTTCTACggccggCACgcccagCTGcggTTCCTGGACCTGgtgccctccCTGCAGCTGGACcccggccCAGATCTAC cgggtgaccTGGTTCATCtccTGGtccccTGCTTtccTGGggcTGCgcccggcaggtgccccTTCCTGCAGgagAACaccCACgtgcg gCTGcggATCTTCgcccggcggATCTACGACTACGACcccCTGTACAAGgaggccCTGCAGATGCTGcggGACgcccggcggccCAGg tgtccATCATGaccTACGACgagTTCAAGCACTGCTGGGACaccTTCgtgGACCACCAGggcTGCcccTTCCAGcccTGGGACgg cCTGGACgagCACTccCAGgccCTGtccggccggCTGcgggccATCCTGCAGAACCAAGggcAACTccggtccgagacccccggcacctccga gtccgccacccccgagtcgcacaagaagtactccatcggcctggCcatcggcaccaactccgtgggctgggcccgtgatcaccgacgagtacaaggtgccctccaagaa gttcaaggtgctgggcaacaccgacccgcaactccatcaagaagaacctgatcggcgcccctgctgttcgactccggcgagaccgccgaggccacccggctgaagcggac cgccccggcggttacacccggcggaagaaccggatctgctacctgcaggagatcttccaacgagatggccaaggtggacgactccttctccacccggctggaggag tcttctctggtggaggaggacaagaagcagcagcggcaccccatcttcggcaacatcgtaggacgaggtggcctaccacgagaagtacccacctatccacctgcgg aagaagctggtggactccaccgacaaggccgacctgcggctgatctacctggccctggcccacatgatcaagttccggggccacttctgatcgagggcgacctgaaccc cgacaactccgacgtggacaagctgttcatccagctggtgcagacctacaaccagctgttcgaggagaaccccatcaacgcctccggcgtggacgccaaggccatcctgt ccgccccggctgtccaagtccggcggtggagaacctgatcgccagctgcccggcgagaagaagaacggcctgttcggcaacctgatcgccctgtccctgggcctgac

		ccccaacttcaagtccaacttcgacctggccgaggacgccaagctgcagctgtccaaggacacctacgacgacgacctggacaacctgctggcccagatcggcgacca gtacgccgacctgttcttgccgccaagaacctgtccgacgccatctgtctccgacatctgcgggtgaacaccgagatcaccaaggccccctgtccgctccatgat caagcggtagcagagcaccaccaggacctgacctgtgaaggccctggtgcggcagcagctgcccgagaagtacaaggagatcttctcgaccagtccaagaacg gctacgccgggtacatcgacggcggcgctcccaggaggagttctacaagttcatcaagcccatctggagaagatggacggcaccgaggagctgctggtgaagctga accgggaggacctgctgcggaagcagcggaccttcgacaacgggtccatccccaccagatccacctgggagctgcacgccatctgcggcggcaggaggacttct accccttctgaaggacaaccgggagaagatcgagaagatcctgacctccggatcccctactacgtgggccccctggccggggcaactcccggttcgctggatgacc cggaagtccgaggagaccatcacccctggaacttcgaggagggtggtggacaagggcgctccgcccagtccttcatcgagcggatgaccaacttcgacaagaacctg cccaacgagaagggtgctgccaagcactccctgctgtacgagtacttcacctgtacaacgagctgaccaaggtaagtacgtgaccgagggcatgcggaagccgcct tcctgtccggcgagcagaagaaggccatcgtagacctgtgttaagaccaaccggaaggtagacctgaagcagctgaaggaggactacttcaagaagatcgagtgtt cgactccgtggagatctccggcgtggaggaccggttaacgcctccctgggcacctaccacgacctgctgaagatcatcaaggacaaggacttctggacaacgaggag aacgaggacatcctggaggacatcgtagacctgacctgttcgaggaccgggagatgatcgaggagcggctgaagacctacgcccacctgttcgacgacaagggtg atgaagcagctgaagcggcggcggtacaccggctggggccggctgtcccgaagctgatcaacggcatccgggacaagcagtcgggaagaccatcctggacttctg aagtccgacggcttcgccaaccggaacttcatgcagctgatccacgacgactccctgacctcaaggaggacatccagaaggcccaggtgtccggccagggcgactccc tgcacgagcacatcgccaacctggccggtcccccgcatcaagaagggcatctgcagacctgaagggtggtggacgagctggtgaagggtgatggccggcacaag cccgagaacatcgtagatcgagatggccgggagaaccagaccaccagaagggccagaagaactcccgggagcggatgaagcggatcgaggagggcatcaagg agctgggtcccagatcctgaaggagcaccccggtggagaacaccagctgcagaacgagaagctgtacctgtactacctgcagaacggccgggacatgtacgtggacc aggagctggacatcaaccggctgtccgactacgacgtggaccacatcgtagccagtccttctgaaggacgactccatcgacaacaagggtgtgacctgggtccgacaa gaaccggggcaagtccgacaacgtgccctccgaggagggtggtgaagaagatgaagaactactggcggcagctgctgaacgccaagctgatcaccagcgggaagttcg acaacctgaccaaggccgagcggggcggtgtccgagctggacaaggccggttcatcaagcggcagctggtggagaccggcagatcaccaagcacgtggcca gatcctggactcccggatgaacaccaagtacgacgagaacgacaagctgatccgggaggtgaagggtgatccctgaagtccaagctggtgtccgacttccggaagga ctccagttctacaagggtcgggagatcaacaactaccaccacgcccacgacgcctacctgaacgcgtggtgggaccgccctgatcaagaagtacccaagctggag tccgagttcgtgtacggcgactacaagggtgtacgacgtgcggaagatgatcgccaagtcggagcaggagatcggcaaggccaccgccaagttcttactccaacat catgaacttctcaagaccgagatcacctggccaacggcgagatccggaagcggcccctgatcgagaccaacggcgagaccggcgagatcgtgtgggacaagggcc gggacttcgccaccgtgcggaagggtgtgcatgccccagggtgaacatcgtagaagaagaccgaggtgcagaccggcggttctccaaggagtccatcctgccaagcg
--	--	--

		gaactccgacaagctgatcgcccgaagaaggactgggacccaagaagtacggcggctcgactccccaccgtggcctactccgtgctggtggtggccaaggtgga gaagggcaagtccaagaagctgaagtccgtgaaggagctgctgggcatcaccatcatggagcggctcctcctcgagaagaaccccatcgacttctggaggccaaggg ctacaaggaggtgaagaaggacctgatcatcaagctgccaagtactccctgttcgagctggagaacggccggaagcggatgctggcctccgccggcgagctgcagaa gggcaacgagctggccctgccctccaagtacgtgaacttctgtacctggcctcccactacgagaagctgaagggctccccgaggacaacgagcagaagcagctgttc gtggagcagcacaagcactacctggacgagatcatcgagcagatctccgagtctccaagcgggtgatcctggccgacgccaacctggacaaggtgctgtccgcctaca acaagcaccgggacaagcccatccgggagcaggccgagaacatcatccacctgttcacctgaccaacctgggcgcccccgccgcctcaagtactcgacaccacca tcgaccggaagcgggtacacctccaccaaggaggtgctggacgccacctgatccaccagtcctaccggcctgtacgagaccggatcgacctgtcccagctgggcg gcgacggcggcggtcccccaagaagaagcggaaggtgTgA
645	Marco de lectura abierto para Nme1Cas9 codificado por ARNm F	ATGGCAGCATTCAAGCCGAAGCTCGATCAACTACATCCTGGGACTGGACATCGGAATCGCATCGGTCCGGATGGGCAAT GGTCGAAATCGACGAAGAAGAAAACCCGATCAGACTGATCGACCTGGGAGTCAGAGTCTTCGAAAGAGCAGAAGTC CCGAAGACAGGAGACTCGCTGGCAATGGCAAGAAGACTGGCAAGATCGGTGAGAAGACTGACAAGAAGAAGAGCAC ACAGACTGCTGAGAACAAGAAGACTGCTGAAGAGAGAAGGAGTCCTGCAGGCAGCAAACCTTCGACGAAAACGGACT GATCAAGTCGCTGCCGAACACACCGTGGCAGCTGAGAGCAGCAGCACTGGACAGAAAGCTGACACCGCTGGAATGG TCGGCAGTCCTGCTGCACCTGATCAAGCACAGAGGATACCTGTGCGAGAGAAAGAACGAAGGAGAAACAGCAGACA AGGAACTGGGAGCACTGCTGAAGGGAGTCGCAGGAAACGCACACGCACTGCAGACAGGAGACTTCAGAACACCGG CAGAACTGGCACTGAACAAGTTCGAAAAGGAATCGGGACACATCAGAAACCAGAGATCGGACTACTCGCACACATTC TCGAGAAAGGACCTGCAGGCAGAACTGATCCTGCTGTTTCGAAAAGCAGAAGGAATTCGGAAACCCGCACGTCTCGG GAGGACTGAAGGAAGGAATCGAAACACTGCTGATGACACAGAGACCGGCACTGTGCGGAGACGCAGTCCAGAAGAT GCTGGGACACTGCACATTCGAACCGGCAGAACCGAAGGCAGCAAAGAACACATACACAGCAGAAAGATTCTCTGG CTGACAAAGCTGAACAACCTGAGAATCCTGGAACAGGGATCGGAAAGACCGCTGACAGACACAGAAAGAGCAACACT GATGGACGAACCGTACAGAAAGTCGAAGCTGACATACGCACAGGCAAGAAAGCTGCTGGGACTGGAAGACACAGCA TTCTTCAAGGGACTGAGATACGGAAAGGACAACGCAGAAAGCATCGACACTGATGGAAATGAAGGCATACCACGCAAT CTCGAGAGCACTGGAAAAGGAAGGACTGAAGGACAAGAAGTCGCCGCTGAACCTGTGCGCGGAACTGCAGGACGAA ATCGGAACAGCATTCTCGCTGTTCAAGACAGACGAAGACATCACAGGAAGACTGAAGGACAGAATCCAGCCGGAAAT

		CCTGGAAGCACTGCTGAAGCACATCTCGTTGACAAAGTTCGTCCAGATCTCGCTGAAGGCACTGAGAAGAATCGTCC CGCTGATGGAACAGGGAAAGAGATACGACGAAGCATGCGCAGAAATCTACGGAGACCACTACGGAAAGAAGAACAC AGAAGAAAAGATCTACCTGCCGCCGATCCCGGCAGACGAAATCAGAAACCCGGTCGTCTCTGAGAGCACTGTGCGAG GCAAGAAAGGTCATCAACGGAGTCGTGAGAAGATACGGATCGCCGGCAAGAATCCACATCGAAACAGCAAGAGAAG TCGGAAAGTCGTTCAAGGACAGAAAGGAAATCGAAAAGAGACAGGAAGAAAACAGAAAGGACAGAGAAAAGGCAGC AGCAAAGTTCAGAGAATACTTCCCGAACTTCGTGCGGAGAACCGAAGTCGAAGGACATCCTGAAGCTGAGACTGTACG AACAGCAGCACGGAAAGTGCCTGTACTCGGGAAAGGAAATCAACCTGGGAAGACTGAACGAAAAGGGATACGTGCA AATCGACCACGCACTGCCGTTCTCGAGAACATGGGACGACTCGTTCAACAACAAGGTCCTGGTCCTGGGATCGGAAA ACCAGAACAAGGGAAACCAGACACCGTACGAATACTTCAACGGAAAGGACAACCTCGAGAGAATGGCAGGAATTCAAG GCAAGAGTCGAAACATCGAGATTCCCGAGATCGAAGAAGCAGAGAATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAAGACGGATT CAAGGAAAGAAACCTGAACGACACAAGATACGTCAACAGATTCTGTGCCAGTTCGTGCGCAGACAGAATGAGACTGA CAGGAAAGGGAAAGAAGAGAGTCTTCGCATCGAACGGACAGATCACAAACCTGCTGAGAGGATTCTGGGGACTGAG AAAGGTCAGAGCAGAAAACGACAGACACCACGCACTGGACGCAGTCGTGTCGCATGCTCGACAGTCGCAATGCAG CAGAAGATCACAAGATTCTGTGATACAAAGGAAATGAACGCATTCTGACGGAAAGACAATCGACAAGGAAACAGGAGA AGTCCTGCACCAGAAGACACACTTCCCGCAGCCGTGGGAATTCTTCGCACAGGAAGTCATGATCAGAGTCTTCGGAA AGCCGGACGGAAAGCCGGAATTCTGAAGAAGCAGACACACTGGAAAAGCTGAGAACACTGCTGGCAGAAAAGCTGTC GTCGAGACCGGAAGCAGTCCACGAATACGTACACCCGCTGTTTCGTCTCGAGAGCACCGAACAGAAAGATGTCGGGA CAGGGACACATGGAAACAGTCAAGTCGGCAAAGAGACTGGACGAAGGAGTCTCGGTCCTGAGAGTCCCGCTGACAC AGCTGAAGCTGAAGGACCTGAAAAAGATGGTCAACAGAGAAAGAGAACCGAAGCTGTACGAAGCACTGAAGGCAAG ACTGGAAGCACACAAGGACGACCCGGCAAAGGCATTCTGCAGAACCGTTCTACAAGTACGACAAGGCAGGAAACAGA ACACAGCAGGTCAAGGCAGTCAGAGTCGAACAGGTCCAGAAGACAGGAGTCTGGGTCAGAAACCACAACGGAATCG CAGACAACGCAACAATGGTCAGAGTAGACGTCTTCGAAAAGGGAGACAAGTACTACCTGGTCCCGATCTACTCGTGG CAGGTCGCAAAGGGGAATCCTGCCGGACAGAGCAGTCGTCCAGGGAAAGGACGAAGAAGACTGGCAGCTGATCGAC GACTCGTTCAACTTCAAGTTCTCGCTGCACCCGAACGACCTGGTCAAGTCATCACAAAGAAGGCAAGAATGTTCCG
--	--	---

		ATACTTCGCATCGTGCCACAGAGGAACAGGAAACATCAACATCAGAATCCACGACCTGGACCACAAGATCGGAAAGA ACGGAATCCTGGAAGGAATCGGAGTCAAGACAGCACTGTCGTTCCAGAAGTACCAGATCGACGAAGTGGGAAAGGA AATCAGACCGTGCAGACTGAAGAAGAGACCGCCGGTCAGATCCGGAAAGAGAACAGCAGACGGATCGGAATTCGAA TCGCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTGAATGA
646	Marco de lectura abierto para UGI codificado por ARNm G	ATGACCAACCTGTCCGACATCATCGAGAAGGAGACCGGCAAGCAGCTGGTGATCCAGGAGTCCATCCTGATGCTGC CCGAGGAGGTGGAGGAGGTGATCGGCAACAAGCCCGAGTCCGACATCCTGGTGACACCGCCTACGACGAGTCCA CCGACGAGAACGTGATGCTGCTGACCTCCGACGCCCCCGAGTACAAGCCCTGGGCCCTGGTGATCCAGGACTCCAA CGGCGAGAACAAAGATCAAGATGCTGTCCGGCGGCTCCAAGCGGACCGCCGACGGCTCCGAGTTCGAGTCCCCCAA GAAGAAGCGGAAGGTGGAGTGATAG
647	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm H	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCA TGGTGAGATCGACGAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTTCGAGCGGGCCGAGG TGCCCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGG GCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCGACGAGAA CGGCCTGATCAAGTCCCTGCCAACACCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCT GGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGAC CGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCG GACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTC CCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCC CACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCC GTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAG CGGTTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACCGACACC GAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGC CTGGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGA AGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCCTGAACCTGTCCTC

		CGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGA CCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAG GCCCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGAC CACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGG TGCTGCGGGCCCTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCC ACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACC GGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGTTCGCGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGG ACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCG GCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAAC AAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACA ACTCCCGGGAGTGCGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCC TGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCTGTG CCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTGCGCTCCAACGGCCAGATCAC CAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCG TGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTT CGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTC TTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCTGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCC GAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTG TTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTCTGTG AAGCACAACGAGAAGATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGA ACTACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCA AGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGA AGACCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGG TGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAGTCCGGCGGCGGCTCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTCCGGCGGCTCCG
--	--	--

		GCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCTGCCCCGACATCGACTGCAA GGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAGGACG AGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCACGAC AAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGC TGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCCGTGCGGTAG
648	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm I	ATGGTGCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCG GCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCG TGCGGGTGTTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGCCCGGTCC GTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGGCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGC TGCAGGCCGCGGACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCCTGCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCG CCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGT CCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACAACGCC CACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCAC ATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTCCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTCCG AGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACCC AGCGGCCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGG CTCCGAGCGGCCCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTA CGCCCAGGCCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGC CGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGA CAAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGAC GAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTC GACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGAC GAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCATCC

		CCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCA ACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAAGGGCAACCAGACCC CCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACCTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGTGTTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAAC GACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGAAGAACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCGTGACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCTGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCGCCCCACAAGGACAC CCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTCTGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACCTACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCAGAAAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCCGCTACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCC
--	--	--

		TGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCGTGCGGTACCCCTACGACGTGCCCGACTACGCCGCCGCCCCCGCCGCCAAG AAGAAGAAGCTGGACTAG
649	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm J	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCA TGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTTCGAGCGGGCCGAGG TGCCCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGGCGGCTGACCCGGCGGCGG GCCACCGGCTGCTGCGGGCCCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCGACGAGAA CGGCCTGATCAAGTCCCTGCCAACACCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCT GGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGAC CGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGCCAACAACGCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCG GACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTC CCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCC CACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCC GTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAG CGGTTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACCGACACC GAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGC CTGGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGA AGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCCTGAACCTGTCCTC CGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGA CCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAG GCCCTGCGGCGGATCGTGCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGAC CACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGG TGCTGCGGGCCCTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCC ACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACC GGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCAAGTTCGGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGG

		ACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCG GCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAAC AAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACA ACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCC TGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCTGTG CCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTGCGCTCCAACGGCCAGATCAC CAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCG TGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTT CGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTC TTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCTGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCC GAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTG TTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTCTGTG AAGCACAACGAGAAGATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGA ACTACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCA AGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGA AGACCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAAGCGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGG TGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGC CGAGAACATCCTGCCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACA AGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACTCCTCC AACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGG TGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCGG TGCGG
650	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm K	atggccgccttcaagccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcacgcctccgtgggctgggcatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatcc ggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggcccagggtcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcccgggtccgtgcggcggctgaccc

		gagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgaaggtggacaagaagggcaagaacc agttacttcatcggtgccatctacgcctggcaggtggccgagaaacatcctgccgacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttccctgcac aagtacgacctgatcgcttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgctactacatcaactcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaa gggtccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctgggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaaga agcggccccccgtgcgg
651	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm L	atgGACGGCTCCGGCGGCGGGCTCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGGCGGCTCCGGCGGCGGCGccgccttcaagcccaa ccccatcaactacatcctgggcctggacatcgccatcgctccgtgggctggccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtg cgggtgttcgagcgggcccaggtgccaagaccggcgactccctggccatggcccgccggtggtggcggtccgtgcggcggtgacctggcgggccaccggct gctgcgggcccggcggtgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgccaacaccccctggcagctgcggg ccgcccctggaccggaagctgacccccctggagtggtccgcccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtccagcggaagaacgagggcgagacc gccgacaaggagctgggcgccctgctgaaggcggtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttcggacccccgccgagctggccctgaacaagttcg agaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagt tcggcaacccccacgtgtccggcgccctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacctagcggcccgcctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccact gcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcgggtcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctcc gagcggcccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctagcccaggccccggaagctgctgggcctggaggaca ccgccttcttcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcc tgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaagg accgggtgcagcccagatcctggaggccctgctgaagcacatctcctcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggtatcgtcccctgatggagcag ggcaagcgttacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatcc ggaaccccggtgtgctgcgggccctgtcccaggccccggaaggtgatcaacggcggtgtgcggcggtacggctccccgcccggatccacatcgagaccgccgggag gtgggcaagtcttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgcccgaagtccgggagttacttcccaa cttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaa cgagaagggtacgtggagatcgaccacgccctgcccttctccggacctgggacgactccttaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaaggg caaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggccccgggtggagacctccgggtcccccggtccaagaagcagc

		ggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggctcaaggagtgaacctgaacgacacccggtacgtgaaccggtcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctga ccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgtgcgggggttctggggcctgcggaagggtcgggccgagaacgacgggcacca cgccctggacgccgtggtggtggcctgtccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgac aaggagaccggcaagggtgctgcaccagaagacccaacttccccagccctgggagttcttcgccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgcggcaagccc gaggtcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtccc gggccccaaccggaagatgtccggcgccacaaggacaccctgcggtccgccaagcgggtcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgacc gagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggtggaggcctacggcggcaacg ccaagcaggccttcgacccaaggacaaccccttctacaagaaggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagaccaggagtccggcgtgctgctgaac aagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaagggtggacaagaagggaagaaccagtactcatcgtgccatctac gcctggcaggtggccgagaacatcctgcccacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgttctccctgcacaagtacgacctgatgccttcc agaaggacgagaagtccaagggtgagttcgctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggtccaaggagcagcagtt ccggatctccaccagaacctgggtgctgatccagaagtaccagggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgtgcggtag
652	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 con etiqueta HiBiT codificado por ARNm M	ATGGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGGCGGCTCCGGCGGCGGCGCCGCCTTCAA GCCCAACCCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGAC GAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCAAGACCGG CGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCACCGGCTGC TCGGGGCCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAG TCCCTGCCCAACACCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCC GTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAG CTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACAACGCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAG CTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCC GGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCG GCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGC TGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTTCATCTGGCT

		GACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCTGACCGACACCGAGCGGGGCCACCCT GATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGC CTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCC ATCTCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGAC GAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGGTGCAGCCC GAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGA TCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTACGGCAAGA AGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCC TGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCG CCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGG GAGAAGGCCGCCGCAAGTTCGGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGC TGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAGAA GGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTG CTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAAGGGCAACCAGACCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACCTCCCGGGAGT GGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGT TCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCTGTGCCAGTTCGTGGC CGACCACATCCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCG GGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCT GCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGAC CATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAG GTGATGATCCGGGTGTTTCGGCAAGCCCACGGCAAGCCCAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCGAGAAGCTGCGG ACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCTGTTTCGTGTCCCGG GCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCGCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTTCGTGAAGCACAACGAG AAGATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACATAAGAACG
--	--	--

		GCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTC GACCCCAAGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAG TCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGGTGGACGTGTTCT GCAAGGTGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCT GCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTGA TCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTC TACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAGA AGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCGTGCGGTCCGAGT CCGCCACCCCGAGTCCGTGTCCGGCTGGCGGCTGTTCAAGAAGATCTCCTAG
653	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm N	atgGACGGCTCCGGCGGCGGGCTCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGGCGGCTCCGGCGGCGGCgccgccttcaagccaa ccccatcaactacatcctgggcctggacatcgcatcgctccgtgggctgggcatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtg cgggtgttcgagcgggcccagaggtgccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgcggcggctgaccggcgggcgggccaccggct gctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgctgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgccaacaccccctggcagctgcggg ccgcccctggaccggaagctgacccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagacc gccgacaaggagctgggcccctgctgaagggcgtggccaacaacgccacgccctgcagaccggcgacttcggacccccgagctggccctgaacaagttcg agaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagt tcggcaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgaccagcggcccgcctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccact gcacctcgagcccgcgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcgggtcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctcc gagcggcccctgaccgacaccgagcggggccacctgatggacgagccctaccggaagtccaagtgacctacgccaggcccgaagctgctgggcctggaggaca ccgccttctcaagggcctgcgttacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctccggggcctggagaaggagggcc tgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaagg accgggtgcagcccagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccctgatggagcag ggcaagcggtagcagaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatcc ggaaccccggtggtgctgcgggcccctgtccaggcccgaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtagcgctccccgcccgatccacatcgagaccgcccggag

		gtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgcccgaagtccgggagtacttcccaa ctctgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaa cgagaagggctacgtggagatcgaccacgcccctgcccttctccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaaggg caaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttaaggccccgggtggagacctcccggtcccccggtccaagaagcagc ggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttaaggagtgaacctgaacgacacccgggtacgtgaaccgggttctctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctga ccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggcccagagaacgaccggcacca cgccctggacgccgtggtggtggcctgtccaccgtggccatgcagcagaagatcacccgggtcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgac aaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagccccgacggcaagccc gaggttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccgccccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtccc gggccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacacctgcgggtccgccaagcgggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgacc gagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggccccggctggaggcctacggcggcaacg ccaagcaggccttcgacccaaggacaaccccttctacaagaagggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagaccaggagtccggcgctgctgctgaac aagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgctgccatctac gcctggcaggtggccgagaacatcctgcccacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgcttcc agaaggacgagaagtccaaggtggagttcgctactacatcaactcgactcctccaacggccgggttctacctggcctggcacgacaaggggtccaaggagcagcagtt ccggatctcaccacagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgcccggctgaagaagcggccccccgtgcggTCC GGAAAGCGGACCGCCGACGGCTCCGGAGGAGGAAGCCCCGCCGCAAGAAGAAGAAGCTGGACtag
654	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm O	atgGACGGCTCCGGCGGCGGGCTCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAG GCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCgcccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatc ggcatcgctccgtgggctgggcatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggcccagggtgcccaag accggcgactccctggccatggcccggcggtggcccggtccgtgcggcggtgacctggcgggcgggccccaccggctgctgcgggccccggcggtgctgaagcggg agggcggtgctgagggccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccacacccccctggcagctgcgggcccggccctggaccggaagctgaccccc ctggagtggctcgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtccagcggaagaacgagggcgagaccggcacaaggagctgggcgcctgctgaa gggcgtggccaacaacgccacgccctgcagaccggcgacttccggacccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccag

		cggggcgactactccacaccttctcccgaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaacccccacgtgtccggcggcctga aggagggcatcgagacctgctgatgacctagcgcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgtggggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggcc gccaagaacacctacaccgcccagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccctgaccgacaccgagcgggc caccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctagcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttctcaaggcctgcggtacggcaa ggacaacgccgaggcctccacctgatggagatgaaggcctaccacgccatctccggggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgt cctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccc tgctgaagcacatctcctcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgcccctgatggagcagggcaagcgggtacgacgaggcctgcgccgag atctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatccggaaccccggtgtgctgcgggcccctgtcca ggcccggaaggatcaacggcgtggtgcggcggtacggctccccgcccggtaccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccctcaaggaccggaaggag atcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccgaagtccgggagtaacttcccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatc ctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggtacgtggagatcgaccacgc cctgcccttctccggacctgggacgactccttcaacaacaagggtgctggtgctgggtccgagaaccagaacaagggaaccagaccccctacgagtacttcaacggc aaggacaactcccgaggatggcaggagttcaaggcccggtggagacctcccggtcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacgg cttcaaggagtgaacctgaacgacacccgggtacgtgaaccgggttctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggaacggcggggtgttcgcct ccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaagggtgcgggcccgagaacgaccggcaccacgcctggacgccgtggtggctgctcca ccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaagggtgctgcaccagaa gaccacttccccagccctgggagttcttcgccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgcagggaagcccgagttcgaggaggccgacacccccgagaa gctgcggacctgctggccgagaagctgtcctccggcccaggccgtgcacgagtagtgacccccctgttcgtgtccggggccccaaccggaagatgtccggcgcc cacaaggacacctgcggtccgccaagcgggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacat ggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggtggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgacccaaggacaa cccccttacaagaaggggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagaccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgac aacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgaagggtgacaagaagggaagaaccagtacttcatcgtgccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgc ccgacatcgactgcaagggtaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtagcactgatgccttcagaaggacgagaagtccaagggtggagt tcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggtccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctggtgctga
--	--	--

		tccagaagtaggaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcgcccccgtagcggtag
655	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 con etiqueta HiBiT codificado por ARNm P	atgGACGGCTCCGGCGGGCGGCTCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGGACAAGCGGGCCCGCCGCCACCAAGAAG GCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGGCGGGCGCCGCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATC CTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAACCCCATCCGG CTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCG GCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGGCGGGCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGGCGGCTGCTG AAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCTGG CAGCTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAG CACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGG CGTGGCCAACAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGA GAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGA GCTGATCCTGCTGTTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGA GACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGA GCCCCCGGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTTCTGCTGACCAAGCTGAACAACCTG CGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCG GAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCG GTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGA GAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCCTGAACCTGTCTCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTC TCCCTGTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTG CTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCTGATGGAGC AGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGA TCTACCTGCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCCAGGCCCGGAAGG TGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGT CCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAG

		TTCCGGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGC AGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGC GGCTGAACGAGAAGGGGCTACGTGGAGATCGA CCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAG AACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAAC TCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCC GGGTGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAA GGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTGACC GGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGG AAGGTGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAG CAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCA AGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCCG CAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCGGACACCCCGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCT GTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCTGTTCTGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTC CGGCGCCCAACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTCTGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCCGTGAAGCGGGT GTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAAC TACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTAC GAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTC TACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAG AAGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAGAAGGGCA AGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCTGCCCGACATCGACTGCAAGGG CTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCAGAAAGGACGAGA AGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAG GGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGCTGG GCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCGTGCGGTCCGAGTCCGCCACCCCGAGTCCGTGT CCGGCTGGCGGCTGTTCAAGAAGATCTCCTAG
656	Marco de lectura abierto para	atgGACGGCTCCGGCGGGCGGCTCCGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAG

	Nme2Cas9 codificado por ARNm Q	AAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcgccatcgctccgtgggctgggcatggtgg agatcgacgaggaggagaaccccatccggtgatcgacctgggctgctgggtgttcgagcggggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccgggcgg ctggcccggtccgtgctggcggtgacctggcgggggccaccggctgctgctgggcccggcggtgctgaagcgggagggcggtgctgcaggccgcccacttcgacga gaacggcctgatcaagtccctgccaacacccctggcagctgctggccgcccgcctggaccggaagctgaccccccctggagtgtccgccgtgctgctgcacctgatc aagcaccgggggtacctgtcccagcgggaagaacgagggcgagaccgcccacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgcccgtgca gaccggcgacttccggacccccgcccagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctccgga aggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagtccggcaacccccacgtgtccggcgccctgaaggagggcatcgagacctgctgatgacc agcggcccgcctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggcccactgcaccttcgagcccgcgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttc atctggctgaccaagctgaacaacctgcggtacctggagcaggggtccgagcggcccctgaccgacaccgagcggggccaccctgatggacgagccctaccggaagtc caagctgacctacgcccaggcccgaagctgctgggcctggaggacaccgccttctcaagggcctgcggtacgggaaggacaacgccgaggcctccacctgatgga gatgaaggcctaccacgccatctccggggccctggagaaggaggccctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccg ccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccgggtgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgc agatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccctgatggagcagggcaagcggtagcagcaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaac accgaggagaagatctacctgtcccccatccccgccgacgagatccggaaccccggtgtgctgcggggccctgtcccaggcccgaagggtgatcaacggcggtggtgcgg cggtacggctccccgccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtcctcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaa ggaccgggagaaggccgccccaagttccgggagttacttcccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctcggctgtacgagcagcagcacg gcaagtgccgtactccggcaaggagatcaacctgggtgcggctgaacgagaagggtacgtggagatcgaccacgcccctgcccttctccggacctgggacgactcctc aacaacaagggtgctggtgctgggtccgagaaccagaacaagggaaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttca aggcccgggtggagacctccgggtcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgaacctgaacgacacccggt acgtgaaccggttctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggaagcggcggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggc ttctggggcctgcggaagggtgcggggcgagaacgaccggcaccacgcccctggacgccgtggtggtggcctgtccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttc gtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaagggtgctgcaccagaagaccacttccccagccctgggagttcttcgcc caggagggtgatgatccgggtgttcggcaagcccacggcaagcccagttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctc ccggcccaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtccggggcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacacctgcgggtccgccaagcggtt
--	--------------------------------	--

		cgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgag ctgtacgagggccctgaaggcccggtggaggcctacggcggaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaaccccttctacaagaagggcgccagctggtga aggccgtgcgggtggagaagaccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgc aaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcagggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcgac gactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatgccttcagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgctactacatcaactgcgactcctccaacgg ccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctgggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaag gagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgtgcggtag
657	Marco abierto de lectura para editor de base Nme2Cas9 codificado por ARNm R	ATGGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAA GGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCGAGGCCTCCCCGCCTCCGGCCCCCGGCACC TGATGGACCCCCACATCTTCACCTCCAACCTCAACAACGGCATCGGCCGGCACAAGACCTACCTGTGCTACGAGGTG GAGCGGCTGGACAACGGCACCTCCGTGAAGATGGACCAGCACCGGGGCTTCCTGCACAACCAGGCCAAGAACCTG CTGTGCGGCTTCTACGGCCGGCACGCCGAGCTGCGGTTCTTGACCTGGTGCCCTCCCTGCAGCTGGACCCCGCC CAGATCTACCGGGTGACCTGGTTCATCTCCTGGTCCCCCTGCTTCTCCTGGGGCTGCGCCGGCGAGGTGCGGGCCT TCCTGCAGGAGAACACCCACGTGCGGCTGCGGATCTTCGCCGCCCGGATCTACGACTACGACCCCCTGTACAAGGA GGCCCTGCAGATGCTGCGGGACGCCGGCGCCCAGGTGTCCATCATGACCTACGACGAGTTCAAGCACTGCTGGGA CACCTTCGTGGACCACCAGGGCTGCCCTTCCAGCCCTGGGACGGCCTGGACGAGCACTCCAGGCCCTGTCCGG CCGGCTGCGGGCCATCCTGCAGAACCAGGGCAACTCCGGCTCCGAGACCCCGGCACCTCCGAGTCCGCCACCCC CGAGTCCGCAGCGTTCAAACCAAATcccatcaactacatcctgggcctggccatcgcatcgctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgagga ggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggcccaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggccggcggtggcccggtccgt gcggcggctgacctggcgggcgggccaccggctgctgcgggcccggcggtgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgcccacttcgacgagaacggcctgatc aagtccctgcccaacaccccctggcagctgcgggcccggccctggaccggaagctgacccccctggagtggtcgccgtgctgctcacctgatcaagcaccggggct acctgtcccagcgggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgcccctgcagaccggcgactcc ggacccccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactccacaccttctcccggaaggacctgcaggcc gagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagacctgctgatgaccagcggccccgcctgt

		ccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcacctcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcacatggctgaccaag ctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgc ccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttctcaagggcctgcggtacgggaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctacc acgccatctccggggcctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaa gaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagtctgtgcagatctccctgaag gccctgcggcggatcgtgcccctgatggagcagggcaagcggtagcagaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaag atctacctgcccccatccccgccgacgagatccggaaccccggtggtgctgcggggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctccc ccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaa ggccgccgccaagttccgggagtacttcccaactcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtac tccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctccggacctgggacgactcctcaacaacaaggtgc tgggtgctgggctccgagaaccagaacaagggaaccagaccccctacgagtacttaacggcaaggacaactccgggagtggcaggagttcaaggcccggtgga gacctccgggtccccgggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttaaggagtgaacctgaacgacaccggtagctgaaccgcttc ctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcggtgttcgctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcg gaaggtgcgggcccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgtccaccgtggcatgcagcagaagatcacccgggtcgtgcgttacaagg agatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagaccacttccccagccctgggagttctcgcccaggaggtgatga tccgggtgttcggcaagcccgcggcaagcccgcggttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgtggccgagaagctgtcctccggccccgaggcc gtgcacgagtagtgacccccctgtcgtgtcccggggccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaac gagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccct gaaggcccggtggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaaccccttctacaagaagggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtg gagaagaccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgaaggtggacaaga agggcaagaaccagtacttcacgtgccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacacctt gcttctccctgcacaagtacgacctgatgccttcagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgctactacatcaactgcgactcctcaacggccggttctacctggc ctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctggtgctgatccagaagtaaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccct gccggctgaagaagcggccccccgtgcggtccggaaagcggaccgcccgcgaggtccgagttcgagtccccaagaagaagcgggaaggtggagtag
--	--	--

658	Marco abierto de lectura para editor de base Nme2Cas9 codificado por ARNm	ATGGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGGACAAGCGGCCCCGCCGCCACCAAGAA GGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCGAGGCCTCCCCCGCCTCCGGCCCCCGGCACC TGATGGACCCCCACATCTTCACCTCCAACCTCAACAACGGCATCGGCCGGCACAAGACCTACCTGTGCTACGAGGTG GAGCGGCTGGACAACGGCACCTCCGTGAAGATGGACCAGCACCGGGGCTTCCTGCACAACCAGGCCAAGAACCTG CTGTGCGGCTTCTACGGCCGGCACGCCGAGCTGCGGTTCTTGACCTGGTGCCCTCCCTGCAGCTGGACCCCGCC CAGATCTACCGGGTGACCTGGTTCATCTCCTGGTCCCCCTGCTTCTCCTGGGGCTGCGCCGGCGAGGTGCGGGCCT TCCTGCAGGAGAACACCCACGTGCGGCTGCGGATCTTCGCCGCCCGGATCTACGACTACGACCCCCTGTACAAGGA GGCCCTGCAGATGCTGCGGGACGCCGGCGCCCAGGTGTCCATCATGACCTACGACGAGTTCAAGCACTGCTGGGA CACCTTCGTGGACCACCAGGGCTGCCCTTCCAGCCCTGGGACGGCCTGGACGAGCACTCCAGGCCCTGTCCGG CCGGCTGCGGGCCATCCTGCAGAACCAGGGCAACTCCGGCTCCGAGACCCCCGGCACCTCCGAGTCCGCCACCCC CGAGTCCGCAGCGTTCAAACCAAATcccatcaactacatcctgggcctggccatcggcctcgctgggctgggcatggtggagatcgacgagga ggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggccggcggtggccgggtccgt gcggcggtgacccggcgggggccaccggctgctgcgggcccggcggtgctgaagcgggagggcggtgctgcaggccgcccacttcgacgagaacggcctgatc aagtccctgcccaacacccctggcagctgcgggcccggccctggaccggaagctgacccccctggagtggtccgctgctgctgcacctgatcaagcaccgggggt acctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgcccacaaggagctgggcgcccctgctgaaggcggtggccaacaacgcccacgcccctgcagaccggcgactcc ggacccccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtcggccacatccggaaccagcgggcgactactccacaccttctccggaaggacctgcaggcc gagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggaacccccacgtgtccggcgccctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgaccagcgggcccgcctgt ccggcgacgccgtgcagaagatgctgggacctgcacctcgagcccggcgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgcccagcggttcacttggtgaccaag ctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcgggccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagtgcacctacgc ccaggcccgaagctgctgggctggaggacaccgccttctcaaggcgctgcggtacggcaaggacaacgcccaggcctccaccctgatggagatgaaggcctacc acgccatctccggggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaa gaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaag gccctgcggcggtatgctgccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaag atctacctgcccccatccccgacgagatccggaacccgtggtgctgcgggcccctgtccaggcccggaaggatcaacggcggtggtgcggcggtacggctccc
-----	---	--

		ccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtcctcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaa ggccgcccgaagttccgggagtagtctcccaactcgtagggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtac tccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaaggggtacgtggagatcgaccacgcctgcccttctcccgacctgggacgactcctcaacaacaaggtgc tgggtgctgggctccgagaaccagaacaagggaaccagaccccctacgagtactcaacggcaaggacaactcccgggagtgccaggagttcaaggcccgggtgga gacctcccggttccccgggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggctcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtagctgaaccgcttc ctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgtcgctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcg gaaggtgcgggcccgagaacgaccggcaccacgcccctggacgcccgtggtggtggcctgtccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaagg agatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagaccacttccccagccctgggagttctcgcccaggaggtgatga tccgggtgttcggcaagcccgcggcaagcccgcagttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgtggccgagaagctgtcctccggccccgaggcc gtgcacgagtagtgacccccctgttcgtgtcccggggccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaac gagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccct gaaggcccggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgacccaaggacaaccccttctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtg gagaagaccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgaaggtggacaaga agggcaagaaccagtacttcacgtgccatctacgctggcaggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttct gcttctccctgcacaagtacgacctgatgccttcagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggc ctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccct gccggctgaagaagcggccccccgtgcggtag
659	Marco de lectura abierto para editor de base Nme2Cas9 codificado por ARNm S	ATGGAGGCCTCCCCGCCTCCGGCCCCCGGCACCTGATGGACCCCCACATCTTCACCTCCAACTTCAACAACGGCA TCGGCCGGCACAAGACCTACCTGTGCTACGAGGTGGAGCGGCTGGACAACGGCACCTCCGTGAAGATGGACCAGC ACCGGGGCTTCCTGCACAACCAGGCCAAGAACCTGCTGTGCGGCTTCTACGGCCGGCACGCCGAGCTGCGGTTCCCT GGACCTGGTGCCCTCCCTGCAGCTGGACCCCGCCAGATCTACCGGGTGACCTGGTTCATCTCCTGGTCCCCCTGC TTCTCCTGGGGCTGCGCCGGCGAGGTGCGGGCCTTCCTGCAGGAGAACACCCACGTGCGGCTGCGGATCTTCGCC GCCCGGATCTACGACTACGACCCCTGTACAAGGAGGCCCTGCAGATGCTGCGGGACGCCGGCGCCAGGTGTCC ATCATGACCTACGACGAGTTCAAGCACTGCTGGGACACCTTCGTGGACCACCAGGGCTGCCCTTCAGCCCTGGG

		ACGGCCTGGACGAGCACTCCCAGGCCCTGTCCGGCCGGCTGCGGGCCATCCTGCAGAACCAGGGCAACTCCGGCT CCGAGACCCCCGGCACCTCCGAGTCCGCCACCCCCGAGTCCGCAGCGTTCAAACCAAATcccataactacatcctgggcctgg ccatcggcatcgctccgtgggctgggcatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgtcgagcgggccgaggtgc ccaagaccggcgcactccctggccatggccggcggtggccgggtccgtgcggcggtgacccggcgcgggcccaccggctgctgcggggccggcggtgctgaag cgggagggcgtgctgcaggccgcgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccacaccccctggcagctgcgggcccggccctggaccggaagctgac ccccctggagtggcccggtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgcccacaaggagctgggcgccctgct gaagggcgtggccaacaacgcccacgcccctgcagaccggcgacttcggacccccgcgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtcggccacatccggaac cagcggggcgactactcccacaccttctcccgaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaacccccacgtgtccggcgggcc tgaaggagggcatcgagaccctgctgatgaccagcgggcccgcctgtccggcgacgcctgcagaagatgctgggccactgcacctcgagcccgcgagcccaag ggcccaagaacacctacaccgcccagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcgcatcctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcg ggccacctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccgaagctgctgggcctggaggacaccgccttctcaagggcctgcggtacgg caaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctccggggcctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaac ctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccagatcctggag gcccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggtacgtgcccctgatggagcagggcaagcgggtacgacgaggcctgcgc cgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatccccgcgacgagatccggaaccccgctggtgctgcgggcctgt cccaggcccgaaggatcaacggcggtggtgcggcggtacggctcccccgcccgatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaa ggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgcccgaagttccgggagttacttcccaacttcgtgggcgagcccaagtccaagga catcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcagcggcaagtgctgtactccggcaaggagatcaacctgggtgcggctgaacgagaagggtacgtggagatcgacca cgccctgcccttctccggacctgggacgactccttaacaacaagggtgctggtgctgggtccgagaaccagaacaagggaaccagaccccctacgagtacttaac ggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcccggttccccgggtccaagaagcagcggtacctgctgcagaagttcgacgagga cggttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgtgaaccgcttctgtgccagttcgtggccaccacatcctgctgaccggcaaggggaagcggcggtgttcg cctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaagggtgcgggcccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgct ccaccgtggccatgcagcagaagatcaccgggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaagggtgctgcacca gaagacccacttccccagccctgggagttctcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccagcggcaagcccagttcgaggaggccgacacccccga
--	--	--

		gaagctgCGgaccctgctggccgagaagctgtcctcccgccccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggccccaaccggaagatgtccggc gcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcgggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagtggccgacctggagaa catggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggtggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggac aacccttctacaagaagggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagaccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccg acaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgccatctacgcctggcagggtggccgagaaacatcct gcccgacatcgactgaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatgccttcagaaggacgagaagtccaaggtgg agttcgctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccaccagaacctggtgc tgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgtgcggtccggaagcggaccgccgacggctccga gttcgagtccccaagaagaagcgggaaggtggagtag
660	Marco de lectura abierto para Nme2Cas9 codificado por ARNm U	ATGaagCTGggcTCCatcGAGttcATCaagGTGaacAAGggcTCCggcTCCggcTCCGGCgccCCcgagTCCgccACCgagTCCggc GGCaccTCCaccGAGtccGAGggcTCCgccGGCaccTCCaccGAGtccGAGggctccGCCggcTCCgccGGCtccaccTCCaccGAGga gGGCaccTCCaccGAGtccGAGggctccGCCggcACctccACCgagtccgagGGCtccGCCggcACctccGAGtccgccACCgagTCCggc GGCaccTCCaccGAGtccGAGggcTCCtccTCCaccggtgccgcctcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcacgcctccgtg ggctgggcatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcggggcgagggtgccaagaccggcgactccct ggccatggccggcggtgcccgggtccgtgcggcggtgacccggcgggcgggcccaccggctgctgcgggccccggcggtgctgaagcgggagggcggtgctgcag gccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacacccccctggcagctgcgggcccgcgcctggaccggaagctgacccccctggagtgggtccgcc gtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgcctgctgaagggcggtggccaaca acgcccacgcctgcagaccggcgacttccggacccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcc cacaccttctcccgaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagtccggcaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgag accctgctgatgaccagcggccccccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagcccgcgagcccaaggccgccaagaacaccta caccgccgagcgggtcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatggacg agccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgag gcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctccggggccctggagaaggaggggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtctccgagctgcag gacgagatcggcaccgccttctccctgttaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccagatcctggaggccctgctgaagcacatc

		tccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccctgatggagcagggcaagcgggtacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgacc actacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatccggaaccccggtggtgctgcgggccctgtcccaggccccggaaggtg atcaacggcggtggtgcggcgggtacggctccccgccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggc aggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccccaagttccgggagtagtctcccaactcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggct gtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggtacgtggagatcgaccacgccctgcccttctcccg gacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactccc gggagtggcaggagtcaaggccccgggtggagacctcccggttccccgggtccaagaagcagcggatcctgtgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgc acctgaacgacacccggtacgtgaaccgcttctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgtgaccggcaagggcaagcggcggtgttcgcctccaacggccagatc accaacctgtgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgtctccaccgtggccatgcag cagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagaccacttccccca gccctgggagttcttcgccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacacccccgagaagctgcggaccctgt ggccgagaagctgtcctcccgccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacacct gcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaaga acggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggccccggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaaccccttctacaagaa gggcgccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagaccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtg cgggtggacgtgttctgaaggtggacaagaagggaagaaccagtacttcatcgtgccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgccgacatcgactgca agggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccctccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgctactacatcaa ctgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggtatctcaccacagaacctggtgctgatccagaagtaccagg tgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggcccccccggtgcggtccggaaagcggaccgccgacggctccgagttcgagtccccaagaa gaagcggaaggtggagtga
661	ORF que codifica Sp. Cas9	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAA GGTCCCGAGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTG CTGTTTCGACAGCGGAGAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAA CAGAATCTGCTACCTGCAGGAAATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAG

		AAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATAC CACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAGAAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGAT CTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTCCTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCG ACGTCGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTTCGAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGA GTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAACCTGATCGCACAGCTGCCGG GAGAAAAGAAGAACGGACTGTTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTCAAGAGCAACTTC GACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCACAGA TCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAG AGTCAACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGA CACTGCTGAAGGCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGG ATACGCAGGATACATCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGG ACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAGCTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTGACAACGGAAG CATCCCGCACCAAGATCCACCTGGGAGAACTGCACGCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCTGAAGG ACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATCCCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGC AGATTGCGATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGGAACCTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGC AAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAACTTCGACAAGAACCTGCCGAACGAAAAGGTCCTGCCGAAGCACA GCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAAGGAATGAGAAAGCCG GCATTCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACAGTCAAGCA GCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAACG CAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGAC ATCCTGGAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGC ACACCTGTTTCGACGACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAG CTGATCAACGGAATCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTTCGCAAACA GAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACA
--	--	--

		GGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCAGGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTC AAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCGGAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAA CCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAAGAAATGAAGAGAATCGAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGA AGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAA CGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCACATCGTCCCG CAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGACA ACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACA GAGAAAGTTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGA CAGCTGGTCGAAACAAGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGA AAACGACAAGCTGATCAGAGAAGTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCC AGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAACTACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCA CTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTCGTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGAT CGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGAC AGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAAACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCT GGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTCAACATCGTCAAGAAGACAGA AGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATCGCAAGAAAGAAG GACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAGGTCTG AAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAA AAGAACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTA CAGCCTGTTCGAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTG GCACTGCCGAGCAAGTACGTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACA ACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTGCAACAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGC AAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGACAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCA GAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACAAACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGAC
--	--	--

		ACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGACGCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGG ACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGCCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGT CTAG
662	ORF que codifica Sp. Cas9	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACA AGGTGCCCTCCAAGAAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCT GCTGTTGACTCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGA AGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCTCCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTG GAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGTG GCCTACCACGAGAAGTACCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGACCTGC GGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGA CAACTCCGACGTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTTCGAGGAGAACCCCATCAACG CCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGCCC AGCTGCCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCCGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAA GTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCTG CTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATCCTGCTGTCCG ACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCA CCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAG TCCAAGAACGGCTACGCCGGCTACATCGACGGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCC TGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCT TCGACAACGGCTCCATCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTA CCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATCCCCTACTACGTGGGCCCCCTG GCCCCGGGGCAACTCCCGGTTGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCTGGAACCTTCGAGGAG GTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAACGAGA AGGTGCTGCCCAAGCACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACC

		GAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACC GGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGG CGTGGAGGACCGGTTCAACGCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTG GACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTTCGAGGACCGGGAGATGATCG AGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCG GCTGGGGCCCGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCT GAAGTCCGACGGCTTCGCCAACCGGAACCTTCATGCAGCTGATCCACGACGACTCCCTGACCTTCAAGGAGGACATC CAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCTCCCCCGCCATC AAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGCCCGAGAAC ATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATGAAGCGG ATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAAC GAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGT CCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCG GTCCGACAAGAACCGGGGGCAAGTCCGACAACGTGCCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCG GCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTC CGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGAT CCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCACCTGAAG TCCAAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACCTACCACCACGCCCA CGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTCTGTGTAC GGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAG TACTTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCC CCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGT GCTGTCCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTG CCCAAGCGGAACCTCCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCC
--	--	---

		CCCACCGTGGCCTACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAG GAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGGTCTCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCT ACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACTCCCTGTTTCGAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCG GATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAGTACGTGAACTTCCTGTAC CTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTTCGTGGAGCAGCACA AGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGA CAAGGTGCTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTC ACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCA CCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGTCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCA GCTGGGCGGCGACGGCGGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA
663	ORF que codifica Sp. Cas9	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGCCUGGACAUCGGCACGAACAGCGUUGGCUGGGCUGUGAUCACGGACGAGUA CAAGGUUCCCUCAAAGAAGUUAAGGUGCUGGGCAACACGGACCGGCACAGCAUCAAGAAGAAUCUCAUCGGUGC ACUGCUGUUCGACAGCGGUGAGACGGCCGAAGCCACGCGGCUGAAGCGGACGGCCCGCCGGCGGUACACGCGG CGGAAGAACCGGAUCUGCUACCUGCAGGAGAUUCUUCAGCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACAGCUUCUCCA CCGGCUGGAGGAGAGCUUCCUGGUGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGCAACAUCGUGG ACGAAGUCGCCUACCACGAGAAGUACCCACCAUCUACCACCUUGCGGAAGAAGCUGGUGGACUCGACUGACAAGG CCGACCUUGCGGCUGAUCUACCUGGCACUGGCCCACAUGAUAAAGUUCGGGGCCACUUCUGAUCGAGGGCGAC CUGAACCCUGACAACAGCGACGUGGACAAGCUGUUAUCCAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGCUGUUCGAGGA GAACCCCAUCAACGCCAGCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUCCUCAGCGCCCGCCUCAGCAAGAGCCGGCGGCUGG AGAAUCUCAUCGCCAGCUUCCAGGUGAGAAGAAGAAUGGGCUGUUCGGCAAUCUCAUCGCACUCAGCCUGGGC CUGACUCCCAACUUAAGAGCAACUUCGACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUCAGCAAGGACACCUACGAC GACGACCUGGACAAUCUCCUGGCCCAGAUUCGGCGACCAGUACGCCGACCUGUUCUGGCUGCCAAGAAUCUCAG CGACGCCAUCCUGCUCAGCGACAUCUGCGGGUGAACACAGAGAUACGAAGGCCCCCUCAGCGCCAGCAUGA UAAAGCGGUACGACGAGCACCACCAGGACCUGACGCUUGAAGGCACUGGUGCGGCAGCAGCUUCCAGAGAAG

		UACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAAUGGGUACGCCGGGUACAUCGACGGUGGUGCCAGCCAGGAGGA GUUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACAGAGGAGCUGCUGGUGAAGCUGAACAGGG AGGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACGUUCGACAAUGGGAGCAUCCCCACCAGAUCCACCUGGGUGAGCUGCAC GCCAUCCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAACAGGGAGAAGAUUCGAGAAGAUCCUGAC GUUCCGGAUCCCCUACUACGUUGGCCCCCUUGCCCCGCGGCAACAGCCGGUUCGCCUGGAUGACGCGGAAGAGC GAGGAGACGAUCACUCCCUGGAACUUCGAGGAAGUCGUGGACAAGGGUGCCAGCGCCCAGAGCUUCAUCGAGCG GAUGACGAACUUCGACAAGAAUCUCCAAACGAGAAGGUGCUUCCAAAGCACAGCCUGCUGUACGAGUACUUCAC GGUGUACAACGAGCUGACGAAGGUGAAGUACGUGACAGAGGGCAUGCGGAAGCCCGCCUCCUCAGCGGUGAGC AGAAGAAGGCCAUUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACGAACCGGAAGGUGACGGUGAAGCAGCUGAAGGAGGACUAC UUCAAGAAGAUUCGAGUGCUUCGACAGCGUGGAGAUCAAGCGGCGUGGAGGACCGGUUCAACGCCAGCCUGGGCAC CUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCUGGACAACGAGGAGAACGAGGACAUCUGGAGGA CAUCGUGCUGACGCUGACGCUGUUCGAGGACAGGGAGAUGAUAGAGGAGCGGCUGAAGACCUACGCCCACCUGU UCGACGACAAGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCGGUACACGGGCUGGGGCCGGCUCAGCCGGAAGCUGAU CAAUGGGAUCCGAGACAAGCAGAGCGGCAAGACGAUCCUGGACUUCUGAAGAGCGACGGCUUCGCCAACCGGA ACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACAGCCUGACGUUCAAGGAGGACAUC CAGAAGGCCCAGGUCAGCGGCCAG GGCGACAGCCUGCACGAGCACAUUCGCCAAUCUCGCCGGGAGCCCCGCCAUCAAGAAGGGGAUCCUGCAGACGGU GAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAAGCCAGAGAACAUUCGUGAUCGAGAUGGCCAGG GAGAACCAGACGACUCAAAGGGGCAGAAGAACAGCAGGGAGCGGAUGAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUCAAGGA GCUGGGCAGCCAGAUCCUGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACUCAACUGCAGAACGAGAAGCUGUACCUGUACU ACCUGCAGAAUGGGCGAGACAUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUCAACCGGCUCAGCGACUACGACGUGGAC CACAUUCGUUCCCCAGAGCUUCCUGAAGGACGACAGCAUCGACAACAAGGUGCUGACGCGGAGCGACAAGAACCG GGGCAAGAGCGACAACGUUCCCUCAGAGGAAGUCGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGCAGCUGCUGAACG CCAAGCUGAUCACUCAACGGAAGUUCGACAAUCUCACGAAGGCCGAGCGGGGUGGCCUCAGCGAGCUGGACAAG GCCGGGUUCAUCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACGCGGCAGAUCACGAAGCACGUGGCCCAGAUCUGGACAGCCG
--	--	--

		GAUGAACACGAAGUACGACGAGAACGACAAGCUGAUCAGGGAAGUCAAGGUGAUCACGCUGAAGAGCAAGCUGGU CAGCGACUUCCGGAAGGACUCCAGUUCUACAAGGUGAGGGGAGAUCAACAACUACCACCACGCCCACGACGCCUA CCUGAACGCUGUGGUUGGCACGGCACUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGAGCGAGUUCGUGUACGGCGACU ACAAGGUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUAGCCAAGAGCGAGCAGGAGAUCCGGCAAGGCCACGGCCAAGUACUUC UUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUAAGACAGAGAUACACGCUGGCCAAUGGUGAGAUCCGGAAGCGGCCCCUG AUCGAGACGAAUGGUGAGACGGGUGAGAUCCUGUGGGACAAGGGGGCGAGACUUCGCCACGGUGCGGAAGGUGC UCAGCAUGCCCCAGGUGAACAUCCUGUAAGAAGACAGAAGUCCAGACGGGUGGCUUCAGCAAGGAGAGCAUCCUU CCAAAGCGGAACAGCGACAAGCUGAUCGCCCCGCAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAAGUACGGUGGCUUCGACAG CCCCACCGUGGCCUACAGCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGGAAGAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUGA AGGAGCUGCUGGGCAUCACGAUCAUGGAGCGGAGCAGCUUCGAGAAGAACCCCAUCGACUUCCUGGAAGCCAAG GGGUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUUCCAAAGUACAGCCUGUUCGAGCUGGAGAAUGGGCG GAAGCGGAUGCUGGCCAGCGCCGGUGAGCUGCAGAAGGGGAACGAGCUGGCACUUCCCUCAAAGUACGUGAACU UCCUGUACCUGGCCAGCCACUACGAGAAGCUGAAGGGGAGCCCAGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUG GAGCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUACGCGAGUUCAGCAAGCGGGUGAUCCUGGCCGA CGCCAAUCUCGACAAGGUGCUCAGCGCCUACAACAAGCACCGAGACAAGCCCAUCAGGGAGCAGGCCGAGAACAU CAUCCACCUGUUCACGCUGACGAUUCUGGUGCCCCCGCUGCCUUAAGUACUUCGACACGACGAUCGACCCGGA AGCGGUACACGUCGACUAAGGAAGUCCUGGACGCCACGCUGAUCCACCAGAGCAUCACGGGCCUGUACGAGACG CGGAUCGACCUCAGCCAGCUGGGUGGCGACGGUGGUGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUAG
664	ORF que codifica Sp. Cas9	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGCCUCGACAUCGGCACCAACAGCGUCGGCUGGGCCGUAUCACCGACGAGUA CAAGGUCCCCAGCAAGAAGUUAAGGUCCUCGGCAACACCGACCGCCACAGCAUCAAGAAGAACCUCAUCGGCGC CCUCCUCUUCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGCCUCAAGCGCACCGCCCGCCGCCGCUACACCCGCC GCAAGAACCGCAUCUGCUACCUCAGGAGAUUCUUCAGCAACGAGAUGGCCAAGGUCGACGACAGCUUCUUCACC GCCUCGAGGAGAGCUUCCUCGUCGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGCCACCCCAUCUUCGGCAACAUCGUCGAC GAGGUCGCCUACCACGAGAAGUACCCACCAUCUACCACCUCGCAAGAAGCUCGUCGACAGCACCGACAAGGCC

		GACCUCCGCCUCAUCUACCUCGCCCUCGCCCACAUGAUCAAGUUCGCGGCCACUUCCUCAUCGAGGGCGACCU CAACCCCGACAACAGCGACGUCGACAAGCUCUUCAUCCAGCUCGUCCAGACCUACAACCAGCUCUUCGAGGAGAA CCCCAUCAACGCCAGCGGCGUCGACGCCAAGGCCAUCCUCAGCGCCCCGCCUCAGCAAGAGCCGCCGCCUCGAGA ACCUCAUCGCCCAGCUCUCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUCUUCGGCAACCUCAUCGCCCUCAGCCUCGGCCUC ACCCCCAACUUAAGAGCAACUUCGACCUCGCCGAGGACGCCAAGCUCUCCAGCUCAGCAAGGACACCUACGACGAC GACCUCGACAACCUCCUCGCCCAGAUUCGGCGACCAGUACGCCGACCUCUUCUCCUCGCCGCCAAGAACCUCAGCGA CGCCAUCCUCCUCAGCGACAUCCUCCGCGUCAACACCGAGAUCACCAAGGCCCCCCUCAGCGCCAGCAUGAUCAA GCGCUACGACGAGCACCACCAGGACCUCACCCUCCUCAAGGCCUUCGUCCGCCAGCAGCUCUCCCGAGAAGUACAA GGAGAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGCUACGCCGGCUACAUCGACGGCGGGCGCCAGCCAGGAGGAGUUCU ACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUCGAGAAGAUUGGACGGCACCGAGGAGCUCUCCUCGUCAAGCUCAACCGCGAGGACC UCCUCCGCAAGCAGCGCACCUUCGACAACGGCAGCAUCCCCACCAGAUCCACCUCGGCGAGCUCACGCCAUCC UCCGCCGCCAGGAGGACUUCUACCCCUUCCUCAAGGACAACCGCGAGAAGAUUCGAGAAGAUCCUCACCUUCCGCA UCCCCUACUACGUCGGCCCCCUCGCCCCGCGGCAACAGCCGCUUCGCCUGGAUGACCCGCAAGAGCGAGGAGACC AUCACCCCCUGGAACUUCGAGGAGGUCGUCGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCUUCAUCGAGCGCAUGACCAA CUUCGACAAGAACCUCUCCCAACGAGAAGGUCCUCCCCAAGCACAGCCUCCUCUACGAGUACUUCACCGUCUACAA CGAGCUCACCAAGGUCAAGUACGUCACCGAGGGCAUGCGCAAGCCCGCCUUCUUCAGCGGGCGAGCAGAAGAAGG CCAUCGUCGACCUCUUCUUAAGACCAACCGCAAGGUCACCGUCAAGCAGCUCAAGGAGGACUACUUAAGAAGA UCGAGUGCUUCGACAGCGUCGAGAUCAGCGGGCGUCGAGGACCGCUUCAACGCCAGCCUCGGCACCUACCACGAC CUCCUCAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCUUCGACAACGAGGAGAACGAGGACAUCUUCGAGGACAUCGUCCUC ACCCUCACCCUCUUCGAGGACCGCGAGAUGAUCGAGGAGCGCCUCAAGACCUACGCCACCUCUUCGACGACAA GGUCAUGAAGCAGCUCAAGCGCCGCCGCUACACCGGCUGGGGGCCGCCUCAGCCGCAAGCUCAUCAACGGCAUCC GCGACAAGCAGAGCGGCAAGACCAUCCUCGACUUCUUCUUAAGAGCGACGGCUUCGCCAACCGCAACUUAUGCAGC UCAUCCACGACGACAGCCUCACCUUCAAGGAGGACAUC CAGAAGGCCAGGUCAGCGGCCAGGGCGACAGCCUC CACGAGCACAUCCCAACCUCGCCGGCAGCCCCGCCAUCAAGAAGGGCAUCCUCCAGACCGUCAAGGUCGUCGA
--	--	--

		CGAGCUCGUCAAGGUCAUGGGCCGCCACAAGCCCCGAGAACAUCGUCAUCGAGAUGGCCCGCGAGAACCAGACCA CCCAGAAGGGCCAGAAGAAGAGCCGCGAGCGCAUGAAGCGCAUCGAGGAGGGCAUCAAGGAGCUCGGCAGCCAG AUCCUCAAGGAGCACCCCGUCGAGAACACCCAGCUCCAGAACGAGAAGCUCUACCUCUACUACCUCAGAACGGC CGCGACAUGUACGUCGACCAGGAGCUCGACAUCAACCGCCUCAGCGACUACGACGUCGACCACAUCGUCCCCCA GAGCUUCCUCAAGGACGACAGCAUCGACAACAAGGUCCUCACCCGCGAGCGACAAGAACCGCGGCAAGAGCGACAA CGUCCCCAGCGAGGAGGUUGUCAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGCCAGCUCCUCAACGCCAAGCUCAUCACCCA GCGCAAGUUCGACAACCUCACCAAGGCCGAGCGCGGGCGGCCUCAGCGAGCUCGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGC GCCAGCUCGUCGAGACCCGCCAGAUACCAAGCACGUCGCCCAGAUCCUCGACAGCCGCAUGAACACCAAGUACG ACGAGAACGACAAGCUCAUCCGCGAGGUCAAGGUCAUACCCUCAAGAGCAAGCUCGUCAGCGACUUCGCAAGG ACUUCCAGUUCUACAAGGUCCGCGAGAUCAACAACUACCACCACGCCCACGACGCCUACCUCAACGCCGUCGUCG GCACCGCCCUCAUCAAGAAGUACCCCAAGCUCGAGAGCGAGUUCGUCUACGGCGACUACAAGGUUACGACGUC CGCAAGAUGAUCGCCAAGAGCGAGCAGGAGAUUCGGCAAGGCCACCGCCAAGUACUUCUACAGCAACAUCAUG AACUUCUUAAGACCGAGAUACCCUCGCCAACGGCGAGAUCCGCAAGCGCCCCUCAUCGAGACCAACGGCGAG ACCGGCGAGAUUCGUCUGGGACAAGGGCCGCGACUUCGCCACCGUCCGCAAGGUCCUCAGCAUGCCCCAGGUCAA CAUCGUCAAGAAGACCGAGGUCCAGACCGGCGGCUUCAGCAAGGAGAGCAUCCUCCCCAAGCGCAACAGCGACAA GCUCAUCGCCCCGCAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUCGACAGCCCCACCGUCGCCUACAGCG UCCUCGUCGUCGCCAAGGUUCGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCUCAAGAGCGUCAAGGAGCUCUCCUGGCAUCACC AUCAUGGAGCGCAGCAGCUUCGAGAAGAACCCCAUCGACUUCUCCGAGGCCAAGGGCUACAAGGAGGUCAAGAA GGACCUCAUCAUCAAGCUCGCCAAGUACAGCCUCUUCGAGCUCGAGAACGGCCGCAAGCGCAUGCUCGCCAGCG CCGGCGAGCUCCAGAAGGGCAACGAGCUCGCCCUCGCCAGCAAGUACGUCAACUCCUCUACCUCGCCAGCCAC UACGAGAAGCUCAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCUCUUCGUCGAGCAGCACAAGCACUACCUC GACGAGAUCAUCGAGCAGAUCAAGCGAGUUCAGCAAGCGCGUCAUCCUCGCCGACGCCAACCUCGACAAGGUCCU CAGCGCCUACAACAAGCACCGCGACAAGCCCAUCCGCGAGCAGGCCGAGAACAUCAUCCACCUCUACCCUCAC CAACCUCGGCGCCCCCGCGCCUUCAAGUACUUCGACACCACCAUCGACCGCAAGCGCUACACCAGCACCAAGGA
--	--	--

		GGUCCUCGACGCCACCCUCAUCCACCAGAGCAUCACCGGCCUCUACGAGACCCGCAUCGACCUCAGCCAGCUCG GCGGCGACGGCGGGCGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGCAAGGUCUAG
665	ORF que codifica Sp. Cas9	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACA AGGTGCCCAGCAAGAAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCT GCTGTTTCGACAGCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGA AGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCT GGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGT GGCCTACCACGAGAAGTACCCACCATCTACCACCTGCGGAAGAAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTG CGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCG ACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTTCGAGGAGAACCCCATCAAC GCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAACCTGATCGC CCAGCTGCCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCAACTTC AAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACC TGCTGGCCCAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCTGCGCCGCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTGCTGAG CGACATCCTGCGGGTGAACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCAC CACCAGGACCTGACCCTGCTGAAGGCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACC AGAGCAAGAACGGCTACGCCGGCTACATCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCAT CCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAGCTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGAC CTTCGACAACGGCAGCATCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCACGCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTT CTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCGGATCCCCTACTACGTGGGCCCC CTGGCCCGGGGCAACAGCCGTTTCGCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATACCCCTGGAACCTTCGAG GAGGTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAAC GAGAAGGTGCTGCCCAAGCACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACG TGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGA

		CCAACCGGAAGGTGACCGTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGAT CAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAACGCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGAC TTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTGGAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGA TGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCACCTGTTCGACGACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGT ACACCGGCTGGGGCCGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGG ACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCTTCAAGGA GGACATCCAGAAGGCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCCGGCAGCCC CGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGCC CGAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGAT GAAGCGGATCGAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCT GCAGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAAC CGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCACATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGC TGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGTGCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACT ACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAGTTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCG GCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACCCGGCAGATCACCAAGCACGTGG CCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAGGTGAAGGTGATCAC CCTGAAGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAACCTACCAC CACGCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAG TTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCA CCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCTGGCCAACGGCGAGATCCGG AAGCGGCCCTGATCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTG CGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTGAACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAG AGCATCCTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATCGCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGC TTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAGGTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAG
--	--	--

		AGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGGAGCAGCTTCGAGAAGAACCCCATCGACTTCCTGGAGG CCAAGGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTCGAGCTGGAGAACGG CCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAGTACGTGAA CTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTG GAGCAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACG CCAACCTGGACAAGGTGCTGAGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCAT CCACCTGTTCACCCTGACCAACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGG TACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCG ACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGGCAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA
666	secuencia de aminoácidos para Sp. Cas9	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQ EIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGH FLIEGDLNPDNSDVKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPN FKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLL KALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGE LHAILRRQEDFYPLKDNREKIEKILTFRIPIYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEVVDKGASAQSFIERMTNFDK NLPNEKVLPHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGV EDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRCLI NGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKV MGRHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDIN RLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKMKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELD KAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYKVINNYHHAHDAYLNAVVG ALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRD FATVRKVLSPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSV KELLGITIMERSSSFENPIDFLEAKGYKEVKDLIILPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFYLYLASHYEK

		LKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFD TTIDRKRYTSTKEVLDTLIHQSI TGLYETRIDLSQLGGDGGGSPKKRKV
667	Marco de lectura abierto para Cas9 con etiqueta HiBiT	AUGGACAAGAAGUACUCCAUCGGCCUGGACAUCGGCACCAACUCCGUGGGCUGGGCCGUGAUCACCGACGAGUA CAAGGUGCCCUCCAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGCACUCCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGCG CCCUGCUGUUCGACUCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGGACCGCCCCGGCGGGCGGUACACCCG GCGGAAGAACCGGAUCUGCUACCUGCAGGAGAUCUUCUCCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACUCCUUCUUC ACCGGCUGGAGGAGUCCUUCUGGUGGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGCAACAUCGUG GACGAGGUGGCCUACCACGAGAAGUACCCACCAUCUACCACCUGCGGAAGAAGCUGGUGGACUCCACCGACAA GGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUGGCCCUUGGCCACAUGAUCAGUUCGCGGGGCCACUUCUGAUCGAGGGC GACCUGAACCCCGACAACUCCGACGUGGACAAGCUGUUAUCCAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGCUGUUCGA GGAGAACCCCAUCAACGCCUCCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUCCUGUCCGCCCGGCUGUCCAAGUCCCGGCGGC UGGAGAACCUGAUCGCCCAGCUGCCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAACCUGAUCGCCCUGUCCUG GGCCUGACCCCCAACUUAAGUCCAACUUCGACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUGUCCAAGGACACCUA CGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCCCAGAUCCGGCGACCAGUACGCCGACCUGUUCUGGCCGCCAAGAACC UGUCCGACGCCAUCCUGCUGUCCGACAUCCUGCGGGUGAACACCGAGAUACCAAGGCCCCCUGUCCGCCUCC AUGAUC AAGCGGUACGACGAGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAGGCCCUUGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGA GAAGUACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGUCCAAGAACGGCUACGCCGGCUACAUCGACGGCGGCGCCUCCCAGG AGGAGUUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUGAAGCUGAAC CGGGAGGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACCUUCGACAACGGCUCCAUCCCCACCAGAUCCACCUGGGCGAGCU GCACGCCAUCCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAACCGGGAGAAGAUCGAGAAGAUC UGACCUUCCGGAUCCCCUACUACGUGGGCCCCCUGGCCCGGGGCAACUCCCGGUUCGCCUGGAUGACCCGGAA GUCCGAGGAGACCAUCACCCCUUGGAACUUCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCGCCUCCGCCAGUCCUUCAUCG AGCGGAUGACCAACUUCGACAAGAACCUGCCCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAGCACUCCUGCUGUACGAGUACU UCACCGUGUACAACGAGCUGACCAAGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCAUGCGGAAGCCCGCCUUCUGUCCGGC

		GAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACCAACCGGAAGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAGGAGGA CUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACUCCGUGGAGAUUCGCGGUGGAGGACCGGUUCAACGCCUCCUGG GCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGAGAACGAGGACAUCCUGG AGGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUGUUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGCGGCUGAAGACCUACGCCAC CUGUUCGACGACAAGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCGGUACACCGGCUGGGGCGCGGCUGUCCCGGAAGC UGAUCAACGGCAUCCGGGACAAGCAGUCCGGCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGAAGUCCGACGGCUUCGCCAAC CGGAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACUCCUGACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAAGGCCAGGUGUCCGG CCAGGGCGACUCCUGCACGAGCACAUCGCCAACCUGGCCGGCUCCCCGCCAUCAAGAAGGGCAUCCUGCAGA CCGUGAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGC CCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACUCCCGGGAGCGGAUGAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUCA AGGAGCUGGGCUCCCGAUCCUGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAGAAGCUGUACCUG UACUACCUGCAGAACGGCCGGGACAUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUAACCGGCUGUCCGACUACGACGU GGACCACAUCGUGCCCCAGUCCUUCUGAAGGACGACUCCAUCGACAACAAGGUGCUGACCCGGUCCGACAAGAA CCGGGGCAAGUCCGACAACGUGCCCUCCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGCAGCUGCUGA ACGCCAAGCUGAUCACCCAGCGGAAGUUCGACAACCUGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGUCCGAGCUGGAC AAGGCCGGCUUCAUCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACCCGGCAGAUACCAAGCACGUGGCCCAGAUCCUGGACUC CCGGAUGAACACCAAGUACGACGAGAACGACAAGCUGAUCCGGGAGGUGAAGGUGAUCACCCUGAAGUCCAAGCU GGUGUCCGACUUCGGAAGGACUUCAGUUCUACAAGGUGCGGGAGAUAACAACUACCACCACGCCACGACG CCUACCUGAACGCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGUCCGAGUUCGUGUACGGC GACUACAAGGUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUCGCCAAGUCCGAGCAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCCAAGUA CUUCUUCUACUCCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUACCCUGGCCAACGGCGAGAUCCGGAAGCGGCC CCUGAUCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGAUUCGUGGGACAAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGGAAG GUGCUGUCCAUGCCCCAGGUGAACAUUCGUGAAGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGCUUCUCCAAGGAGUCCAU CCUGCCCAAGCGGAACUCCGACAAGCUGAUCGCCCCGAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUCG
--	--	--

		ACUCCCCCACCGUGGCCUACUCCGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGCAAGUCCAAGAAGCUGAAGUCC GUGAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGUCCUCCUUCGAGAAGAACCCCAUCGACUCCUGGAGGC CAAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCAAGUACUCCCUGUUCGAGCUGGAGAACG GCCGGAAGCGGAUGCUGGCCUCCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCUGCCCUGCCAAGUACGU GAACUUCCUGUACCUGGCCUCCCACUACGAGAAGCUGAAGGGCUCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCUGU UCGUGGAGCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCUCCGAGUUCUCCAAGCGGGUGAUCCUG GCCGACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGUCCGCCUACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAUCCGGGAGCAGGCCGA GAACAUCAUCCACCUGUUCACCCUGACCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACACCACCAUCGA CCGGAAGCGGUACACCUCACCAAGGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCCACCAGUCCAUCACCGGCCUGUACG AGACCCGGAUCGACCUGUCCCAGCUGGGCGGGCGACGGCGGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUCCGA GUCCGCCACCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCCUGA
668	Secuencia de aminoácidos para Cas9 con etiqueta HiBiT	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQ EIFSNEMAKVDDSFHRLVESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGH FLIEGDLNPDNSDVKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPN FKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLL KALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGE LHAILRRQEDFYFPLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDK NLPNEKVLPHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGV EDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLI NGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKV MGRHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEELGSGILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDIN RLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKMKKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELD KAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYKVINNYHHAHDAYLNAVVG ALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEIQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRD

		FATVRKVL SMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSV KELLGITIMERSSSFENPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEK LKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIIEQISEFSKRVLADANLDKVL SAYNKH RDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFD TTIDRKRYTSTKEVL DATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGGSPKKKRKV
669	SV40 NLS	PKKKRKV
670	SV40 NLS alternativo	PKKKRRV
671	NLS 1 de ejemplo	LAAKRSRTT
672	NLS 2 de ejemplo	QAAKRSRTT
673	NLS 3 de ejemplo	PAPAKRERTT
674	NLS 4 de ejemplo	QAAKRPRTT
675	NLS 5 de ejemplo	RAAKRPRTT
676	NLS 6 de ejemplo	AAAKRSWSMAA
677	NLS 7 de ejemplo	AAAKRVWSMAF
678	NLS 8 de ejemplo	AAAKRSWSMAF
679	NLS 9 de ejemplo	AAAKRKYFAA
680	NLS 10 de ejemplo	RAAKRKAF AA
681	NLS 11 de ejemplo	RAAKRKYFAV
682	NLS de nucleoplasmina	KRPAATKKAGQAKKKK
683	SV40 NLS alternativo	PKKKRKVE
684	SV40 NLS alternativo	KKKRKVE
685	NLS bipartita	KRTADGSEFESPKKKRKVE
686	c-myc como NLS	PAAKKKKLD
687-700	No utilizado	

701	Secuencia de ejemplo que codifica Nme2Cas9 (ARNm AA)	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGGCGGCUCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGG CUCCGGCGGGCGGGCGCCGCCUUAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCG UGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUU CGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCUUGGCCAUGGCCCGGGCGGCUGGGCCCGGUCCGUGCGGGCGG CUGACCCGGCGGGCGGGCCACCGGCUGCUGCGGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCC GCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUAAGUCCUUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUUGGA CCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGC GGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAAACGCCACGCC CUGCAGACCGGCGACUUCGGAACCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCG GAACCAGCGGGGCGACUACUCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGA AGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAG CGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAG GGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGAC CUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACA ACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUG AAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCUGUUA GACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCUGGAGGCCUUGCUGAAGCACA UCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCUGAAGGCCCUUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAG CGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACCGAGGAGAAGAUUCUACCU GCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCAGGCCCGGAAGGUGAUC AACGGCGUGGUGCGGGCGGUACGGCUCCCCCGCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCU UCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCAAGUUC
-----	--	---

		CGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCA GCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUUCG ACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAAC CAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUAAG GCCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACG GCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGGCCGACCACAUC CUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUACCAACCUGCUGCGGGGCUUCU GGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCAC CGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCG ACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUG AUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCGAGAAGCUGCGGAC CCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCUGUUCGUGUCCCGG GCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGA GAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGA ACGGCCGGGAGAUUCGAGCUGUACGAGGCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGC CUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCC AGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGAC GUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGA GAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCUGCACAA GUACGACCUGAUCGCCUUCAGAAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUAACUGCGACUCCU CCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAAC CUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCC CCCCGUGCGGUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAUUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUUCACU UUACAAAUGUUGUCCCCCAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCAA
--	--	--

		AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAA
702	Secuencia de ejemplo que codifica Nme1Cas9 (ARNm AB)	GGGUCCCGCAGUCGGCGUCCAGCGGCUCUGCUUGUUCGUGUGUGUGUCGUUGCAGGCCUUAUUCGGAUCCGCC ACCAUGGCAGCAUUCAAGCCGAACUCGAUCAACUACAUCCUGGGACUGGACAUCGGAAUCGCAUCGGUCGGAUG GGCAAUGGUCGAAAUCGACGAAGAAGAAAACCCGAUCAGACUGAUCGACCUGGGAGUCAGAGUCUUCGAAAGAGC AGAAGUCCCGAAGACAGGAGACUCGCUGGCAAUGGCAAGAAGACUGGCAAGAUCGGUCAGAAGACUGACAAGAAG AAGAGCACACAGACUGCUGAGAACAAGAAGACUGCUGAAGAGAGAAGGAGUCCUGCAGGCAGCAAACUUCGACGA AAACGGACUGAUCAAGUCGCUGCCGAACACACCCUGGGCAGCUGAGAGCAGCAGCACUGGACAGAAAGCUGACACC GCUGGAAUGGUCGGCAGUCCUGCUGCACCUGAUCAAGCACAGAGGAUACCUGUCGCAGAGAAAGAACGAAGGAG AAACAGCAGACAAGGAACUGGGAGCACUGCUGAAGGGAGUCGCAGGAAACGCACACGCACUGCAGACAGGAGACU UCAGAACACCGGCAGAACUGGCACUGAACAAGUUCGAAAAGGAAUCGGGACACAUCAGAAACCAGAGAUCCGACU ACUCGCACACAUUCUCGAGAAAGGACCUGCAGGCAGAACUGAUCCUGCUGUUCGAAAAGCAGAAGGAAUUCGGAA ACCCGCACGUCUCGGGAGGACUGAAGGAAGGAAUCGAAACACUGCUGAUGACACAGAGACCGGCACUGUCGGGA GACGCAGUCCAGAAGAUGCUGGGACACUGCACAUUCGAACCGGCAGAACCGAAGGCAGCAAAGAACACAUACACA GCAGAAAGAUUCAUCUGGCUGACAAAGCUGAACAACCUAGAGAAUCCUGGAACAGGGAUCGGAAAGACCGCUGACA GACACAGAAAGAGCAACACUGAUGGACGAACCGUACAGAAAGUCGAAGCUGACAUACGCACAGGCAAGAAAGCUG CUGGGACUGGAAGACACAGCAUUCUUAAGGGACUGAGAUACGGAAAGGACAACGCAGAAAGCAUCGACACUGAUG GAAAUGAAGGCAUACCACGCAAUCUCGAGAGCACUGGAAAAGGAAGGACUGAAGGACAAGAAGUCGCCGCUGAAC CUGUCGCCGGAACUGCAGGACGAAAUCGGAACAGCAUUCUCGCUGUUAAGACAGACGAAGACAUCACAGGAAGA CUGAAGGACAGAAUCCAGCCGGAUUCUGGAAGCACUGCUGAAGCACAUUCUGUUCGACAAGUUCGUCCAGAUC UCGCUGAAGGCACUGAGAAGAAUCGUCCCGCUGAUGGAACAGGGAAAGAGAUACGACGAAGCAUGCGCAGAAAUC UACGGAGACCACUACGGAAAGAAGAACACAGAAGAAAAGAUUACCUGCCGCCGAUCCCGGCAGACGAAUACAGA

		AACCCGGUCGUCCUGAGAGCACUGUCGCAGGCAAGAAAGGUCAUCAACGGAGUCGUCAGAAGAUACGGAUCCGCC GGCAAGAAUCCACAUCGAAACAGCAAGAGAAGUCGGAAAGUCGUUCAAGGACAGAAAGGAAAUCGAAAAGAGACA GGAAGAAAACAGAAAGGACAGAGAAAAGGCAGCAGCAAAGUUCAGAGAAUACUUCCCCGAACUUCGUCGGAGAACC GAAGUCGAAGGACAUCCUGAAGCUGAGACUGUACGAACAGCAGCACGGAAAGUGCCUGUACUCGGGAAAGGAAAU CAACCUGGGAAGACUGAACGAAAAGGGAUACGUCGAAAUCGACCACGCACUGCCGUUCUCGAGAACAUGGGACGA CUCGUUCAACAACAAGGUCCUGGUCCUGGGAUCGGAAAACCAGAACAAGGGAAACCAGACACCGUACGAAUACUU CAACGGAAAGGACAACUCGAGAGAAUGGCAGGAAUUCAAGGCAAGAGUCGAAACAUCGAGAUUCCCCGAGAUCCGAA GAAGCAGAGAAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAAGACGGAUUCAAGGAAAGAAACCUGAACGACACAAGAUACGU CAACAGAUUCCUGUGCCAGUUCGUCGCAGACAGAAUGAGACUGACAGGAAAGGGAAAGAAGAGAGUCUUCGCAUC GAACGGACAGAUCACAAACCUGCUGAGAGGAUUCUGGGGACUGAGAAAGGUCAGAGCAGAAAACGACAGACACCA CGCACUGGACGCAGUCGUCGUCGCAUGCUCGACAGUCGCAUUGCAGCAGAAGAUCACAAGAUUCGUCAGAUACAA GGAAAUGAACGCAUUCGACGGAAAGACAAUCGACAAGGAAACAGGAGAAGUCCUGCACCAGAAGACACACUCCCC GCAGCCGUGGGAAUUCUUCGCACAGGAAGUCAUGAUCAGAGUCUUCGGAAAGCCGGACGGAAAGCCGGAAUUCG AAGAAGCAGACACACUGGAAAAGCUGAGAACACUCGUCGGCAGAAAAGCUGUCGUCGAGACCGGAAGCAGUCCACG AAUACGUCACACCGCUGUUCGUCUCGAGAGCACCGAACAGAAAGAUGUCGGGACAGGGACACAUGGAAACAGUCA AGUCGGCAAAGAGACUGGACGAAGGAGUCUCGGUCCUGAGAGUCCCGCUGACACAGCUGAAGCUGAAGGACCUG GAAAAGAUGGUCAACAGAGAAAGAGAACCGAAGCUGUACGAAGCACUGAAGGCAAGACUGGAAGCACACAAGGAC GACCCGGCAAAGGCAUUCGCAGAACCGUUCUACAAGUACGACAAGGCAGGAAACAGAACACAGCAGGUCAAGGCA GUCAGAGUCGAACAGGUCCAGAAGACAGGAGUCUGGGUCAGAAACCACAACGGAAUCGCAGACAACGCAACAAUG GUCAGAGUAGACGUCUUCGAAAAGGGAGACAAGUACUACCUGGUCCCGAUCUACUCGUGGCAGGUCGCAAAGGG AAUCCUGCCGGACAGAGCAGUCGUCCAGGGAAAGGACGAAGAAGACUGGCAGCUGAUCGACGACUCGUUCAACU UCAAGUUCUCGCUGCACCCGAACGACCUGGUCGAAGUCAUCACAAAGAAGGCAAGAAUGUUCGGAUACUUCGCAU CGUGCCACAGAGGAACAGGAAACAUCAACAUCAGAAUCCACGACCUGGACCACAAGAUCGGAAAGAACGGAAUCC UGGAAGGAAUCGGAGUCAAGACAGCACUGUCGUUCCAGAAGUACCAGAUCGACGAACUGGGAAAGGAAAUCAGAC
--	--	--

		CGUGCAGACUGAAGAAGAGACCGCCGGUCAGAUCCGGAAAGAGAACAGCAGACGGAUCGGAAUUCGAAUCGCCG AAGAAGAAGAGAAAGGUCGAAUGAUAGCUAGCCAUCACAUUUAAAAGCAUCUCAGCCUACCAUGAGAAUAAGAGAA AGAAAAUGAAGAUCAAUAGCUUAUUAUCUCUUUUUUCUUUUUCGUUGGUGUAAAGCCAACACCCUGUCUAAAAAAC AUAAAUUUCUUUAAUCAUUUUGCCUCUUUUCUCUGUGCUUCAAUUAAUAAAAAUGGAAAGAACCUCGAGAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAUCUAG
703	Secuencia de ejemplo que codifica Nme2Cas9 con etiqueta HiBiT (ARNm V)	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGGCGGCUCCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGG CUCCGGCGGGCGGGCGCCGCCUUAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCG UGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAU CGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUU CGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCUUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGGCCCGGUCCGUGCGGGCGG CUGACCCGGCGGGCGGGCCACCGGCUGCUGCGGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCC GCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUAAGUCCUUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUGGA CCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUAAGCACCGGGGCUACCUGUCCAGC GGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCACGCC CUGCAGACCGGCGACUUCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCG GAACCAGCGGGGCGACUACUCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGA AGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAG CGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAG GGCUCCGAGCGGGCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGAC CUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACA ACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUG AAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCUGUUCAA

		GACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGA UCCUGGAGGCCCU G CUGAAGCACA UCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAU CUCCUGAAGGCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAG CGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAU CUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCU GCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCUGUCCAGGCCCGGAAGGUGAUC AACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCU UCAAGGACCGGAAGGAGAU CGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCAAGUUC CGGGAGUACUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCA GCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAU CG ACCACGCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAAC CAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUAAG GCCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACG GCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUC CUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCU GGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCAC CGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCG ACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUG AUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGAC CCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCUGUUCGUGUCCCGG GCCCCCAACCGGAAGAU GUCCGGCGCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAAACGA GAAGAUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGA ACGGCCGGGAGAU CGAGCUGUACGAGGCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGC CUUCGACCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCC AGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGAC GUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGA
--	--	---

		GAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAA GUACGACCUGAUCGCCUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUAACUGCGACUCCU CCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAAC CUGGUGCUGAUC CAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCC CCCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUAGCUA GCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUACACUUAACAAAAUGUUGUCCC CCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUAAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAA AAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAA ACGUAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAAGGG AAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAUCUAAAA AAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAA AAACUGAAAAAAAAAAAAUUAAAAAAAAAAAAAUCUCGA
704	Secuencia de ejemplo que codifica Nme1Cas9 con etiqueta HiBiT (ARNm X)	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGG CUCCGGCGGCGGCGCAGCAUUCAAGCCAAACUCAAUCAAUUACAUCCUGGGACUGGACAUCGGCAUCGCAUCCG UCGGGUGGGCUAUGGUCGAAAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGCCUGAUCGAUCUGGGCGUGCGCGUGUU UGAGAGGGCAGAGGUGCCUAAGACCGGCGACAGCCUGGCCAUUGGCACGGAGACUGGCACGCUCCGUGAGGCGC CUGACCCGGAGAAGGGCCACAGACUGCUGAGGACACGCCGGCUGCUGAAGAGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCG CCAACUUCGAUGAGAAUGGCCUGAUCAAGUCCUGCCCAUACCCCUUGGCAGCUGAGGGCAGCCGCCUGGAC CGCAAGCUGACACCUCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCUCAGAG AAAGAACGAGGGCGAGACAGCCGAUAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGAGUGGCAGGAAAUGCACACGCCC UGCAGACCGGCGACUUUCGCACACCAGCCGAGCUGGCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGAGCGGCCACAUCCGC AAUCAGCGGUCUGACUAUAGCCACACCUUCUCCCGGAAGGAUCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUUGAGAA GCAGAAGGAGUUCGGCAACCCACACGUGUCUGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACACUGCUGAUGACACAGC

		GGCCCGCCCUGAGCGGCGACGCAGUGCAGAAGAUGCUGGGACACUGCACCUUUGAGCCAGCCGAGCCCAAGGCC GCCAAGAAUACCUACACAGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACAAAGCUGAACAAUCUGAGGAUCCUGGAGCAGGGA AGCGAGCGCCACUGACCGACACAGAGAGGGCCACCCUGAUGGAUGAGCCCUACCGCAAGUCCAAGCUGACAUA UGCACAGGCAAGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUUAAGGGCCUGAGAUACGGCAAGGAUAACG CCGAGGCCUCUACACUGAUGGAGAUGAAGGCCUAUCACGCCAUCAGCAGGGGCCUGGAGAAGGAGGGGCCUGAAG GACAAGAAGUCCCCACUGAAUCUGUCUCCCGAGCUGCAGGAUGAGAUCCGGCACCGCCUUUAGCCUGUUCAAGAC CGACGAGGAUAUCACAGGCAGACUGAAGGACAGGAUCCAGCCAGAGAUCCUGGAGGGCCUGCUGAAGCACAUCA GCUUUGAUAAGUUCGUGCAGAUCAAGGCCUGCGGAGGAUCGUGCCACUGAUGGAGCAGGGCAAGAGG UACGACGAGGCCUGCGCCGAAUUCUACGGCGAUCACUAUGGCAAGAAGAACACAGAGGAGAAAAUCUACCUGCCC CCUAUCCCCGCCGAUGAGAUCAAGGAACCCUGUGGUGCUGCGCGCCCUGUCUCAGGCAAGAAAAGUGAUAACGG AGUGGUGCGCCGGUACGGCAGCCCCGCCAGAAUCCACAUCGAGACAGCCAGGGAAGUGGGCAAGUCCUUUAAGG ACAGAAAGGAGAUUCGAGAAGAGGCAGGAGGAGAACAGAAAGGAUAGGGAGAAGGCCGCCGCAAGUUCAGAGAG UACUUUCCUAAUUUCGUGGGCGAGCCAAAGUCCAAGGAUAUCCUGAAGCUGAGGCUGUACGAGCAGCAGCACGG CAAGUGUCUGUAUUCUGGCAAGGAGAUCAACCUGGGCCGCCUGAAUGAGAAGGGCUAUGUGGAGAUCCACCAG CCCUGCCUUUUUCUGGACCUGGGACGAUAGCUUCAACAAUAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCUGAGAACCAGAAU AAGGGCAACCAGACACCCUACGAGUAUUUCAACGGCAAGGACAUAAGCCGCGAGUGGCAGGAGUUUAAGGCAAGG GUGGAGACAAGCAGGUUCCCUCGGUCCAAGAAGCAGAGAAUCCUGCUGCAGAAGUUUGACGAGGAUGGCUUCA GGAGAGGAACCUGAAUGACACCCGCUACGUGAAUCGGUUUCUGUGCCAGUUCGUGGCCGAUAGAAUGAGGCUGA CCGGCAAGGGCAAGAAGAGAGUGUUUGCCUCCAACGGCCAGAUCAAAUUCUGCUGAGGGGGCUUCUGGGGCCUG AGAAAGGUGAGGGCAGAGAACGACAGGCACCACGCACUGGAUGCAGUGGUGGUGGCAUGUUCUACCGUGGCCAU GCAGCAGAAGAUACACGCUUUGUGCGGUUAUAAGGAGAUGAAUGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGAUAAGGAGAC AGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACACACUUUCCUCAGCCAUGGGAGUUCUUUGCCCAGGAAGUGAUGAUCCGGG UGUUUGGCAAGCCUGACGGCAAGCCAGAGUUCGAGGAGGCCGAUACCCUGGAGAAGCUGAGAACACUGCUGGCA GAGAAGCUGAGCUCCAGGCCCGAGGCAGUGCACGAGUACGUGACCCACUGUUCGUGUCUAGAGCCCCCAACAG
--	--	--

		GAAGAUGAGCGGCCAGGGCCACAUGGAGACAGUGAAGUCCGCCAAGAGACUGGACGAGGGCGUGUCUGUGCUGA GGGUGCCUCUGACACAGCUGAAGCUGAAGGAUCUGGAGAAGAUGGUGAAUCGCGAGCGGGAGCCAAAGCUGUAU GAGGCCCUGAAGGCAAGGCUGGAGGCACACAAGGACGAUCCUGCCAAGGCCUUUGCCGAGCCAUUCUACAAGUA UGAUAAAGGCCGGCAACAGAACCCAGCAGGUGAAGGCCGUGAGGGUGGAGCAGGUGCAGAAGACAGGGCGUGUGG GUGCGCAACCACAAUGGCAUCGCCGACAAUGCUACCAUGGUGCGGGUGGACGUGUUUGAGAAGGGCGAUAAAGUA CUAUCUGGUGCCCAUCUACAGCUGGCAGGUGGCCAAGGGCAUCCUGCCUGAUAGAGCCGUGGUGCAGGGCAAG GACGAGGAGGAUUGGCAGCUGAUCGACGAUUCCUUAACUUAAGUUCUCUCUGCACCCCAAUGACCUGGUGGA AGUGAUCACCAAGAAGGCCAGGAUGUUUGGCUACUUCGCCUCCUGCCACCGCGGCACAGGCAACAUCAAUAUCC GGAUCCACGACCUGGAUCACAAGAUCGGCAAGAACGGCAUCCUGGAGGGCAUCGGCGUGAAGACAGCCCUGAGC UUCCAGAAGUAUCAGAU CGACGAGCUGGGCAAGGAGAU CAGACCUUGUAGGCUGAAGAAGCGCCCACCCGUGCG GUCCGAGUCCGCCACCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCCUAGCUAGCACCAGCCU CAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUUAACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAUGUA GCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUAAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAAACGGA AAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAAAAA AAAAAACUCAAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAA AACGCAAAAAAAAAAAAAACAAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAAACG AAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAAACUGAAAA AAAAAAAAAUUAAAAAAAAAAAAAUCUCGA
705	Secuencia de ejemplo que codifica Nme1Cas9 con etiqueta HiBiT (ARNm Y)	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGGCGGCUCCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGG CUCCGGCGGGCGGCGCCGCCUUAAGCCCAACUCCAUCAACUACAUCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCG UGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAU CGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAU CGACCUGGGCGUGCGGGUGUU CGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGGCCGGUCCGUGCGGGCGG CUGACCCGGCGGCGGGGCCACCGGCUGCUGCGGACCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCC

		GCCAACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUGGA CCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCAGC GGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCGGCAACGCCACGC CCUGCAGACCGGCGACUUCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUC GGAACCAGCGGUCCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAG AAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCA GCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAG GCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCA GGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGA CCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGA CAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCC UGAAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCCCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCUGUUC AAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGAUCCAGCCCGAGAUCUGGAGGCCUGCUGAAGCA CAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCUGAAGGCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCA AGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUAC CUGCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCAGGCCCGGAAGGUGA UCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUC CUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCAAGU UCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAG CAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUAACCUGGGCCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAU CGACCACGCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCGAGA ACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUA AGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGAC GGCUUCAAGGAGCGGAACCUGAACGACACCGGUACGUGAACCUGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCGGAU
--	--	---

		GCGGCUGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCU GGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCAC CGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCG ACAAGGAGACCGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUG AUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCUGGAGAAGCUGCGGAC CCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGG GCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCCAGGGCCACAUGGAGACCGUGAAGUCCGCCAAGCGGCUGGACGAGGGCGU GUCCGUGCUGCGGGUGCCCCUGACCCAGCUGAAGCUGAAGGACCUGGAGAAGAUGGUGAACCGGGAGCGGGAG CCCAAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCCAAGGACGACCCCGCCAAGGCCUUCGCCGAGCC CUUCUACAAGUACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGCAGGUGCAGAAGA CCGGCGUGUGGGUGCGGAACCACAACGGCAUCGCCGACAACGCCACCAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCGAGAA GGGCGACAAGUACUACCGUGGUGCCCAUCUACUCCUGGCAGGUGGCCAAGGGCAUCCUGCCCGACCGGGCCGUG GUGCAGGGCAAGGACGAGGAGGACUGGCAGCUGAUCGACGACUCCUUAACUUAAGUUCUCCUGCACCCCAA CGACCUGGUGGAGGUGAUCACCAAGAAGGCCCGGAUGUUCGGCUACUUCGCCUCCUGCCACCGGGGCACCGGCA ACAUCAACAUCCGGAUCCACGACCUGGACCACAAGAUCGGCAAGAACGGCAUCCUGGAGGGCAUCGGCGUGAAGA CCGCCCUGUCCUUCGAGAAGUACCAGAUCGACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCUGCCGGCUGAAGAAGCGG CCCCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUAGC UAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUUAACAUUUACAAAAUGUUGUC CCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUAAAAAAAAAAAAAUGGAAA AAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAACGAAAAAAAA AAAACGUAAAAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAA GGGAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACAAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAUCUA AAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGUAAAAAA AAAAAACUGAAAAAAAAAAAAUUAAAAAAAAAAAAAUCUCGA
--	--	---

706	Secuencia de ejemplo que codifica Nme3Cas9 con etiqueta HiBiT (ARNm Z)	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGGCGGCUCCCCAAG AAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGCGCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGG CUCCGGCGGGCGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGG GCUGGGCCAUGGUGGAGAU CGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGA GCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCUUGGCCAUUGGCCCGGCGGCUGGGCCCGGUCCGUGCGGGCGGCU GACCCGGCGGGCGGGCCACCGGCUGCUGCGGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGC CGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUGGACC GGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCG GAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCGACAACGCCACGCCC UGCAGACCGGCGACUUCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUGCGGGCCACAUCCGG AACCAGCGGGGGCGACUACUCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAACCUGCUGUUCGAGAA GCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGC GGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGC CGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGG GCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACC UACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGUCCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAA CGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACACCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGA AGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCCCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAG ACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGAUCCAGCCCGAGAUCUGGAGGCCUGCUGAAGCACAU CUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCUGAAGGCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGC GGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUG CCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAA CGGCGUGGUGCGGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUC AAGGACCGGAAGGAGAU CGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUCCG
-----	--	--

		GGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGC ACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGGCCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUUCGAC CACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCA GAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUAAGG CCCGGGUGGAGACCUCGCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGC UUAAGGAGCGGAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCGGAUGCG GCUGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGG GGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCG UGGCCAUGCAGCAGAAGAUACCCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGAC AAGGAGACCGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAU GAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACCC UGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCAGGAGUACGUGACCCCCUGUUCGUGUCCCGGGC CCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCCAGGGCCACAUGGAGACCGUGAAGUCCGCCAAGCGGCUGGACGAGGGCGUGU CCGUGCUGCGGGUGCCCCUGACCCAGCUGAAGCUGAAGGACCUGGAGAAGAUGGUGAACCAGGGAGCGGGAGCC CAAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCCACAAAGGACGACCCCGCCAAGGCCUUCGCCGAGCCCU UCUACAAGUACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGCAGGUGCAGAAGACC GGCGUGUGGGUGCGGAACCACAACGGCAUCGCCGACAACGCCACCAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCGAGAAGG GCGACAAGUACUACCUGGUGCCCAUCUACUCCUGGCAGGUGGCCAAGGGCAUCCUGCCCGACCGGGCCGUGGU GGCCUACGCCGACGAGGAGGACUGGACCGUGAUCGACGAGUCCUUCGGGUUAAGUUCGUGCUGUACUCCAACG ACCUGAUAAGGUGCAGCUGAAGAAGGACUCCUUCUGGGCUACUUCUCCGGCCUGGACCGGGCCACCGGCGCC AUCUCCUGCGGGAGCACGACCUGGAGAAGUCCAAGGGCAAGGACGGCAUGCACCGGAUCGGCGUGAAGACCGC CCUGUCCUUCAGAAAGUACCAGAUUCGACGAGAUGGGCAAGGAGAUCGGGCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCC CCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGUUAAGAAGAUCUCCUAGCUAGCA CCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAUACCAACUACACUUAACAAAUGUUGUCCCCCA
--	--	--

		AAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAAUGGAA AAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAACGAAAAAA AAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAA AGGGAAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAAUCU AAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAAAGUUAAAA AAAAAACUGAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAUCUAG
707	Secuencia de aminoácidos de ejemplo para Nme2Cas9 (Aminoácido AA del ARNm)	MDGSGGGSPKKKRVKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGV RVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDEGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLT PLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFS RKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNL RILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKD KKSPNLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKVFQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGD HYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRLSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAA AKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGCLYSGKEINLVRLEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNK NQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRV FASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSKRFLVKH NEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGLVKAVRVEKTQESGVL LNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKV EFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR*
708	Secuencia de aminoácidos de ejemplo para Nme1Cas9 (aminoácido BB del ARNm)	MAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGV RVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRRAHRLLRTR RLLKREGVLQAANFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLT PLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAG NAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRSDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPAL SGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLE

		DTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSPELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRIQPEILEA LLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRLALSQARKVINGVVR YGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPSKDILKLRLYEQQHKGKCLYSGKEINLG RLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQ KFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVADRMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRRHHALDAVVACST VAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTLEKLRTLLAEKLS SRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGQGHMETVKSARLDEGVSVLRVPLTQLKLKDLEKMNREREPPLYEALKARLEAH KDDPAKAFAEPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGVWVRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYLVPIYSWQVAKGIL PDRVVQKGDEEDWQLIDDSFNFKFSLHPNDLVEVITKKARMFYGFASCHRG TGNINIRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKTALS FQKYQIDELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE*
709	Secuencia de aminoácidos de ejemplo para Nme2Cas9 con etiqueta HiBiT (aminoácido ARNm V)	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGV RVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDEGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLT PLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRGDYSHTFS RKDLQAEILLLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNL RILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKD KKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGD HYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRLALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAA AKFREYFPNFVGEPSKDILKLRLYEQQHKGKCLYSGKEINLRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGN NQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRV FASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRRHHALDAVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSARFVKH NEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGLVKAVRVEKTQESGVL LNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCSLHKYDLIAFQKDEKSKV EFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFKKI

		S*
710	Secuencia de aminoácidos de ejemplo para Nme1Cas9 con etiqueta HiBiT (aminoácido ARNm X)	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGV RVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRTRRLLKREGVLQAANFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLT PLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAGNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRSDYSHTFS RKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNL RILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKD KKSPLNLSPELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDH YGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAA KFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGKCLYSGKEINLGRLENEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGN QTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVADRMRLTGKGGKRV FASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTLEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGQGHMETVKSARLDE GVSVLRVPLTQLKLKDLEKMNREREPCLYEALKARLEAHKDDPAKAFAPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGVW VRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYLLVPIYSWQVAKGILPDRAVVQGKDEEDWQLIDDSFNFKFSLHPNDLVEVITKKAR MFGYFASCHRGTTGNINIRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKTALSFKYQIDELGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFK KIS*
711	Secuencia de aminoácidos de ejemplo para Nme1Cas9 con etiqueta HiBiT (aminoácido ARNm Y)	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGV RVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRTRRLLKREGVLQAANFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLT PLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAGNAHALQTGDFRTPAELALNKFEEKESGHIRNQRSDYSHTFS RKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNL RILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKD KKSPLNLSPELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDH YGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAA KFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGKCLYSGKEINLGRLENEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGN

		QTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVADRMRLTGKGKKRV FASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTLEKLRTLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGQGHMETVKSARLDE GVSVLRVPLTQLKLKDLEKMVNREREPKLYEALKARLEAHKDDPAKAFAEPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGVW VRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDYKYYLVPIYSWQVAKGILPDRAVVQGKDEEDWQLIDDSFNFKFSLHPNDLVEVITKKAR MFGYFASCHRGTTGNINIRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKTALSQKYQIDELGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFK KIS*
712	Secuencia de aminoácidos de ejemplo para Nme3Cas9 con etiqueta HiBiT (aminoácido ARNm Z)	MDGSGGGSPKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVR VFERA EVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAALDRKLTPL EWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVADNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKECGHIRNQRGDYSHTFSR KDLQAELNLLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTCLNNL RILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSCLTYAQARKLLSLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHTISRLEKEGLKD KKSPLNLSPELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDH YGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRLALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAA KFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHKGCLYSGKEINLGRLEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGN QTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVADRMRLTGKGKKRV FASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQP WEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGQGHMETVKSARLDE GVSVLRVPLTQLKLKDLEKMVNREREPKLYEALKARLEAHKDDPAKAFAEPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGVW VRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDYKYYLVPIYSWQVAKGILPDRAVVAYADEEDWTVIDESFRFKFVLYSNDLIKVQLKKDSF LGYFSGLD RATGAISLREHDLEKSKGKDGMHRIGVKTALSQKYQIDEMGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFK KIS*
713	Marco de lectura abierto de para Nme2Cas9	augGACGGCUCCGGCGGCGGCUCGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAA GGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCGCGCGCGGCgcccgcucucaagcccaaccccaucaacuacuccugggcccug

[illegible]

		cccggccccgagggccgugcacgaguacgugacccccuugucgugucccgggccccaaccggaagauguccggcgcccacaaggacaccucgcgguccgcc aagcggguucgugaagcacaacgagaagaucuccgugaagcggguguggcugaccgagaaucaagcuggccgaccuggagaacaugggugaacuacaagaac ggccgggagaucgagcuguacgagggcccugaaggcccgugaggccuacggcgggaacgccaagcaggccuucgacccaaggacaaccccuucuaca agaagggcgccagcuggugaaggccgugcggguggagaagaccaggaguccggcgugcugcugaacaagaagaacgccuacaccaucgcccgacaacg gcgacauggugcggguggacguguucugcaagguggacaagaagggcaagaaccaguacuucaucgugcccaucacgccuggcagguggccgagaaca uccugcccgacaucgacugcaagggcuaccggaucgacgacuccuacaccuucugcuucuccugcacaaguacgaccugaucgcuuccagaaggacga gaaguccaagguggaguucgcuacuacaaucaacugcgacuccuccaaccggccgguucuaucgugccgacgacaagggcucaaggagcagcaguuc cggaucuccaccagaaccuggugcugauccagaaguaccaggugaacgagcuggggcaaggagaucggcccgugccggcugaagaagcggcccccgugc gguag
714	Marco de lectura abierto de ejemplo para Nme1Cas9 (ORF de ARNm AB)	AUGGCAGCAUUCAAGCCGAACUCGAUCAACUACAUCCUGGGACUGGACAUCGGAAUCGCAUCGGUCGGAUGGGC AAUGGUCGAAAUCGACGAAGAAGAAAACCCGAUCAGACUGAUCGACCUGGGAGUCAGAGUCUUCGAAAGAGCAGA AGUCCCGAAGACAGGAGACUCGCUGGCAAUGGCAAGAAGACUGGCAAGAUCGGUCAGAAGACUGACAAGAAGAAG AGCACACAGACUGCUGAGAACAAGAAGACUGCUGAAGAGAGAAGGAGUCCUGCAGGCAGCAAACUUCGACGAAAA CGGACUGAUCAAGUCGCUGCCGAACACACCGUGGCAGCUGAGAGCAGCAGCACUGGACAGAAAGCUGACACCGC UGGA AUGGUCGGCAGUCCUGCUGCACCUGAUCAAGCACAGAGGAUACCUGCAGAGAAAGAACGAAGGAGAAA CAGCAGACAAGGAACUGGGAGCACUGCUGAAGGGAGUCGCAGGAAACGCACACGCACUGCAGACAGGAGACUUC AGAACACCGGCAGAACUGGCACUGAACAAGUUCGAAAAGGAAUCGGGACACAUCAGAAACCAGAGAU CGGACUAC UCGCACACAUUCUCGAGAAAGGACCUGCAGGCAGAACUGAUCCUGCUGUUCGAAAAGCAGAAGGAAUUCGGAAAC CCGCACGUCUCGGGAGGACUGAAGGAAGGAAUCGAAACACUGCUGAUGACACAGAGACCGGCACUGUCGGGAGA CGCAGUCCAGAAGAUGCUGGGACACUGCACAUUCGAACCGGCAGAACCGAAGGCAGCAAAGAACACAUACACAGC AGAAAGAUUCAUCUGGCUGACAAAGCUGAACAACCUGAGAAUCCUGGAACAGGGAUCGGAAAGACCGCUGACAGA CACAGAAAGAGCAACACUGAUGGACGAACCGUACAGAAAGUCGAAGCUGACAUACGCACAGGCAAGAAAGCUGCU GGGACUGGAAGACACAGCAUUCUUCAAGGGACUGAGAUACGGAAAGGACAACGCAGAAGCAUCGACACUGAUGGA AAUGAAGGCAUACCACGCAAUCUCGAGAGCACUGGAAAAGGAAGGACUGAAGGACAAGAAGUCGCCGCUGAACCU

		GUCGCCGGAACUGCAGGACGAAAUCGGAACAGCAUUCUCGCUGUUCAAGACAGACGAAGACAUCACAGGAAGACU GAAGGACAGAAUCCAGCCGGAUCCUGGAAGCACUGCUGAAGCACAUUCUGUUCGACAAGUUCGUCCAGAUCUC GCUGAAGGCACUGAGAAGAAUCGUCCCGCUGAUGGAACAGGGAAAGAGAUACGACGAAGCAUGCGCAGAAAUCUA CGGAGACCACUACGGAAAGAAGAACACAGAAGAAAAGAUUACCUGCCGCCGAUCCCGGCAGACGAAAUCAGAAA CCCGGUCGUCCUGAGAGCACUGUCGCAGGCAAGAAAGGUCAUCAACGGAGUCGUCAGAAGAUACGGAUCGCCGG CAAGAAUCCACAUCGAAACAGCAAGAGAAGUCGGAAAGUCGUUCAAGGACAGAAAGGAAAUCGAAAAGAGACAGGA AGAAAACAGAAAGGACAGAGAAAAGGCAGCAGCAAAGUUCAGAGAAUACUUCGCCGAACUUCGUCGGAGAACCGAA GUCGAAGGACAUCCUGAAGCUGAGACUGUACGAACAGCAGCACGGAAAGUGCCUGUACUCGGGAAAGGAAAUCA CCUGGGAAGACUGAACGAAAAGGGAUACGUCGAAAUCGACCACGCACUGCCGUUCUCGAGAACAUGGGACGACUC GUUCAACAACAAGGUCCUGGUCCUGGGAUCGGAAAACCAGAACAAGGGAAACCAGACACCGUACGAAUACUUCAA CGGAAAGGACAACUCGAGAGAAUGGCAGGAAUUAAGGCAAGAGUCGAAACAUCGAGAUUCCCGAGAUCGAAGAA GCAGAGAAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAAGACGGAUUCAAGGAAAGAAACCUGAACGACACAAGAUACGUCAA CAGAUUCCUGUGCCAGUUCGUCGCAGACAGAAUGAGACUGACAGGAAAGGGAAAGAAGAGAGUCUUCGCAUCGAA CGGACAGAUACAAACCUGCUGAGAGGAUUCUGGGGACUGAGAAAGGUCAGAGCAGAAAACGACAGACACCACGC ACUGGACGCAGUCGUCGUCGCAUGCUCGACAGUCGCAAUGCAGCAGAAGAUACAAAGAUUCGUCAGAUACAAGGA AAUGAACGCAUUCGACGGAAAGACAAUCGACAAGGAAACAGGAGAAGUCCUGCACCAGAAGACACACUUCCCGCA GCCGUGGGAAUUCUUCGCACAGGAAGUCAUGAUCAGAGUCUUCGGAAAGCCGGACGGAAAGCCGGAAUUCGAAG AAGCAGACACACUGGAAAAGCUGAGAACACUGCUGGCAGAAAAGCUGUCGUCGAGACCGGAAGCAGUCCACGAU ACGUCACACCGCUGUUCGUCUCGAGAGCACCGAACAGAAAGAUUGUCGGGACAGGGACACAUGGAAACAGUCAAGU CGGCAAAGAGACUGGACGAAGGAGUCUCGGUCCUGAGAGUCCCGCUGACACAGCUGAAGCUGAAGGACCUGGAA AAGAUGGUCAACAGAGAAAGAGAACCGAAGCUGUACGAAGCACUGAAGGCAAGACUGGAAGCACACAAGGACGAC CCGGCAAAGGCAUUCGCAGAACCGUUCUACAAGUACGACAAGGCAGGAAACAGAACACAGCAGGUCAAGGCAGUC AGAGUCGAACAGGUCCAGAAGACAGGAGUCUGGGUCAGAAACCACAACGGAAUCGCAGACAACGCAACAAUGGUC AGAGUAGACGUCUUCGAAAAGGGAGACAAGUACUACCUUGGUCCCGAUCUACUCGUGGCAGGUCGCAAAGGGAAU
--	--	---

		CCUGCCGGACAGAGCAGUCGUCCAGGGAAAGGACGAAGAAGACUGGCAGCUGAUCGACGACUCGUUCAACUUCA AGUUCUCGCUGCACCCGAACGACCUGGUCGAAGUCAUCACAAAGAAGGCAAGAAUGUUCGGAUACUUCGCAUCGU GCCACAGAGGAACAGGAAACAUCAACAUCAAGAAUCCACGACCUGGACCACAAGAUCGGAAAGAACGGAAUCCUGG AAGGAAUCGGAGUCAAGACAGCACUGUCGUUCCAGAAGUACCAGAUCGACGAACUGGGAAAGGAAAUCAAGACCGU GCAGACUGAAGAAGAGACCGCCGGUCAGAUCGGAAGAGAACAGCAGACGGAUCGGAAUUCGAAUCGCCGAAGA AGAAGAGAAAGGUCGAAUGA
715	Marco de lectura abierto de ejemplo para Nme2Cas9 con etiqueta HiBiT (ORF de ARNm V)	augGACGGCUCCGGCGGCGGCUCUCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAA GGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCGCGCGGCGCGCCGUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACA UCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAU CCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGGCGACUCCCUGGCCAUG GCCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCACCGGCUGCUGCGGGCCCCGGCGG CUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCGAAGUCCCUGCCCAACAC CCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCAC CUGAUCGAAGCACCGGGGCUACCUGUCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCU GCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCUGCAGACCGGCGACUUCGGAACCCCGCCGAGCUGGGCCUGA ACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCACACCUUCUCCCGGAAGGAC CUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAA GGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGC CACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGAC CAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGA UGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCC UUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGC CAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGG ACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAG

		CCCGAGAUCCUGGAGGCCCUUGCUGAAGCACAUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCCCUGAAGGCCCUGCG GCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUACGCGCACCACUAC GGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCU GCGGGCCCUGUCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCAC AUCGAGACCGCCCGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCG GAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCAAGUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGG ACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUG CGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUCAA CAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUAACGGCAA GGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUAAGGCCCGGGUGGAGACCUCGCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGC GGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGG UUCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACG GCCAGAUACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGC CCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUACCCGGUUCGUGCGGUACAAG GAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUCCCC CAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCG AGGAGGCCGACACCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCA CGAGUACGUGACCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCACAAGGACACCCUGC GGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCCUGUAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUAAGCUG GCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCU GGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGC UGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUC GCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAU CGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACG
--	--	---

		ACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGG AGUUCGCCUACUACAUAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAG GAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUC CAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGA GAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGC UGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUAG
716	Marco de lectura abierto de ejemplo para Nme1Cas9 con etiqueta HiBiT (ORF de ARNm X)	augGACGGCUCCGGCGGGCGGCUC CCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAA GGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUC CCGCGGGCGGCGCAGCAUUAAGCCAAACUCAAUUAACA UCCUGGGACUGGACAUCGGCAUCGCAUCCGUCGGGUGGGCUAUGGUCGAAAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUC CGCCUGAUCGAUCUGGGCGUGCGCGUGUUUGAGAGGGCAGAGGUGCCUAAGACCGGCGACAGCCUGGCCAUGG CACGGAGACUGGCACGCUCCGUGAGGGCGCCUGACCCGGAGAAGGGCCCCACAGACUGCUGAGGACACGCCGGCU GCUGAAGAGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCAACUUCGAUGAGAAUGGCCUGAUAAGUCCCUGCCCAAUACCC CUUGGCAGCUGAGGGCAGCCGCCUGGACCGCAAGCUGACACCUCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUC GAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCUCAGAGAAAGAACGAGGGCGAGACAGCCGAUAAGGAGCUGGGCGCCCUGC UGAAGGGAGUGGCAGGAAAUGCACACGCCUGCAGACCGGCGACUUUCGCACACCAGCCGAGCUGGGCCUGAAC AAGUUCGAGAAGGAGAGCGGCCACAUC CGCAAUCAGCGGUCUGACUAUAGCCACACCUUCUCCCGGAAGGAUCU GCAGGCCGAGCUGAUC CUGCUUUUGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCACACGUGUCUGGCGGCCUGAAGG AGGGCAUCGAGACACUGCUGAUGACACAGCGGCCCGCCUGAGCGGGCGACGCAGUGCAGAAGAUGCUGGGACAC UGCACCUUUGAGCCAGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAAUACCUACACAGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACAAA GCUGAACAAUCUGAGGAUCCUGGAGCAGGGAAGCGAGCGCCACUGACCGACACAGAGAGGGCCACCCUGAUGG AUGAGCCCUACCGCAAGUCCAAGCUGACAUAUGCACAGGCAAGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUC UUUAAAGGGCCUGAGAUACGGCAAGGAUAACGCCGAGGCCUCUACACUGAUGGAGAUGAAGGCCUAUCACGCCAU CAGCAGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCACUGAAUCUGUCUCCCGAGCUGCAGGAUG AGAUCGGCACCGCCUUUAGCCUGUUCAAGACCGACGAGGAUAUCACAGGCAGACUGAAGGACAGGAUCCAGCCA GAGAUCUGGAGGCCUGCUGAAGCACAUCAGCUUUGAUAAGUUCGUGCAGAU CAGCCUGAAGGCCUGCGGAG

		GAUCGUGCCACUGAUGGAGCAGGGCAAGAGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAAAUCUACGGCGAUCACUAUGGCA AGAAGAACACAGAGGAGAAAAUCUACCUGCCCCCUAUCCCCGCCGAUGAGAUACAGGAACCCUGUGGGUGCUGCGC GCCUGUCUCAGGCAAGAAAAGUGAUCAACGGAGUGGUGCGCCGGUACGGCAGCCCCGCCAGAAUCCACAUCGA GACAGCCAGGGAAGUGGGCAAGUCCUUUAAGGACAGAAAGGAGAU CGAGAAGAGGCAGGAGGAGAACAGAAAGG AUAGGGAGAAGGCCGCCGCAAGUUCAGAGAGUACUUUCCUAAUUUCGUGGGCGAGCCAAAGUCCAAGGAUAUC CUGAAGCUGAGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGUCUGUAUUCUGGCAAGGAGAUCAACCUGGGCCGCCU GAAUGAGAAGGGCUAUGUGGAGAU CGACCACGCCUGCCUUUUUCUGGACCUGGGACGAUAGCUUCAACAAUA AGGUGCUGGUGCUGGGCUCUGAGAACCAGAAUAAGGGCAACCAGACACCCUACGAGUAUUUCAACGGCAAGGAC AAUAGCCGCGAGUGGCAGGAGUUUAAGGCAAGGGUGGAGACAAGCAGGUUCCUCGGUCCAAGAAGCAGAGAAU CCUGCUGCAGAAGUUUGACGAGGAUGGCUUCAAGGAGAGGAACCUGAAUGACACCCGCUACGUGAAUCGGUUUC UGUGCCAGUUCGUGGGCCGAUAGAAUGAGGCUGACCGGCAAGGGCAAGAAGAGAGUGUUUGCCUCCAACGGCCAG AUCACAAAUCUGCUGAGGGGCUUCUGGGGCCUGAGAAAGGUGAGGGGCAGAGAACGACAGGCACCACGCACUGGA UGCAGUGGUGGUGGCAUGUUCUACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAU CACACGCUUUGUGCGGUUAUAGGAGAUGA AUGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGAUAAGGAGACAGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACACACUUUCCUCAGCCAU GGGAGUUCUUUGCCCAGGAAGUGAUGAUCCGGGUGUUUGGCAAGCCUGACGGCAAGCCAGAGUUCGAGGAGGC CGAUACCCUGGAGAAGCUGAGAACACUGCUGGCAGAGAAGCUGAGCUCCAGGCCCGAGGCAGUGCACGAGUACG UGACCCACUGUUCGUGUCUAGAGCCCCAACAGGAAGAUGAGCGGCCAGGGCCACAUGGAGACAGUGAAGUCC GCCAAGAGACUGGACGAGGGCGUGUCUGUGCUGAGGGUGCCUCUGACACAGCUGAAGCUGAAGGAUCUGGAGAA GAUGGUGAAUCGCGAGCGGGAGCCAAAGCUGUAUGAGGCCCU GAAGGCAAGGCUGGAGGCACACAAGGACGAUC CUGCCAAGGCCUUUGCCGAGCCAUUCUACAAGUAUGAU AAGGCCGGCAACAGAACCCAGCAGGUGAAGGCCGUG AGGGUGGAGCAGGUGCAGAAGACAGGCGUGUGGGUGCGCAACCACAAUGGCAUCGCCGACAAUGCUACCAUGGU GCGGGUGGACGUGUUUGAGAAGGGCGAU AAGUACUAUCUGGUGCCCAUCUACAGCUGGCAGGUGGCCAAGGGC AUCCUGCCUGAUAGAGCCGUGGUGCAGGGCAAGGACGAGGAGGAUUGGCAGCUGAUCGACGAUUCUUAACUU UAAGUUCUCUCUGCACCCCAUGACCUGGUGGAAGUGAUCACCAAGAAGGCCAGGAUGUUUGGCUACUUCGCCU
--	--	---

		CCUGCCACCGCGGCACAGGCAACAUCAUAUCCGGAUCCACGACCUGGAUCACAAGAUCGGCAAGAACGGCAUCC UGGAGGGCAUCGGCGUGAAGACAGCCCUGAGCUUCCAGAAGUAUCAGAUCCGACGAGCUGGGGCAAGGAGAUCAGA CCUUGUAGGCUGAAGAAGCGCCCCACCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGC UGUUCAAGAAGAUCCUAG
717	Marco de lectura abierto de ejemplo para Nme1Cas9 con etiqueta HiBiT (ORF de ARNm Y)	augGACGGCUCCGGCGGCGGCUCUCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCCGCCGCCACCAAGAA GGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCGGCGGGCGGCCCUUCAAGCCCAACUCCAUAACUACA UCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCCGACGAGGAGGAGAACCCCAU CCGGCUGAUCCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUG GCCCCGGCGGCUGGCCCCGUGCCGUGCGGGCGGCUGACCCGGCGGGCGGGCCACCGGCUGCUGCGGACCCGGCGG CUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCAACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACAC CCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCAC CUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCU GCUGAAGGGCGUGGCCGGCAACGCCACGCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGGCCUG AACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCGGAACGAGCGGUCCGACUACUCCACACCUUCUCCCGGAAGGAC CUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAA GGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGC CACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGAC CAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGA UGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCC UUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGC CAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUGUCCCCCGAGCUGCAGG ACGAGAUCCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGAUCCAG CCCGAGAUCCUGGAGGCCUGCUGAAGCACAUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCCCUGAAGGCCCUGCG GCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUAC

		GGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCU GCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUAACGGCGUGGUGCGGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCAC AUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCG GAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGG ACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUAACCUGGGC CGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUA CAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUAACGGCAA GGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUAAGGCCCGGGUGGAGACCUCGCGUUCGCGGACCGGUCCAAGAAGCAGC GGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUAAGGAGCGGAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGG UUCUGUGCCAGUUCGUGGGCCGACCGGAUGCGGCUGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGUGUUCGCCUCCAACG GCCAGAUACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGC CCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUACCCGGUUCGUGCGGUACAAG GAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUCCC CCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUC GAGGAGGCCGACACCCUGGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGC ACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCCAGGGCCACAUGGAGACC GUGAAGUCCGCCAAGCGGCUGGACGAGGGCGUGUCCGUGCUGCGGGUGCCCCUGACCCAGCUGAAGCUGAAGG ACCUGGAGAAGAUGGUGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCCA CAAGGACGACCCCGCCAAGGCCUUCGCCGAGCCCUUCUACAAGUACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGG UGAAGGCCGUGCGGGUGGAGCAGGUGCAGAAGACCGGCGUGUGGGUGCGGAACCACAACGGCAUCGCCGACAA CGCCACCAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCGAGAAGGGCGACAAGUACUACCUGGUGCCCAUCUACUCCUGGCAGG UGGCCAAGGGCAUCCUGCCCGACCGGGCCGUGGUGCAGGGCAAGGACGAGGAGGACUGGCAGCUGAUCGACGA CUCCUUAACUUAAGUUCUCCUGCACCCCAACGACCUGGUGGAGGUGAUCACCAAGAAGGCCCGGAUGUUCG GCUACUUCGCCUCCUGCCACCGGGGCACCGGCAACAUCAACAUCCGGAUCCACGACCUGGACCACAAGAUCGGC
--	--	--

		AAGAACGGCAUCCUGGAGGGCAUCGGCGUGAAGACCGCCCUGUCCUCCAGAAGUACCAGAUCGACGAGCUGGG CAAGGAGAUCCGGCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUG UCCGGCUGGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUAG
718	Marco de lectura abierto de ejemplo para Nme3Cas9 con etiqueta HiBiT (ORF de ARNm Z)	augGACGGCUCCGGCGGGCUCUCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAA GGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCGGCGGGCGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUC UGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCG GCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGGCGACUCCCUGGGCCAUGGCC CGGCGGCUGGCCCCGUGCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCCGGCGGCUG CUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGGCCAACACCCC CUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUG AUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCU GAAGGGCGUGGCCGACAACGCCCACGCCUGCAGACCGGCGACUUCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACA AGUUCGAGAAGGAGUGCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUG CAGGCCGAGCUGAACCUUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGA GGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCAC UGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAA GCUGAACAACCUUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCGGAGCGGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGG ACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCAGGCCCGGAAGCUGCUGUCCUGGAGGACACCGCCUUC UUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACACCAU CUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCUGAACCUUGUCCCCGAGCUGCAGGACG AGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGAUCCAGCCC GAGAUCCUGGAGGCCUGCUGAAGCACAUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCUGAAGGCCUGCGGGCG GAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCA AGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCGGGAACCCCGUGGUGCUGCGG

		GCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCG AGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAG GACCGGGAGAAGGCCCGCCGCAAGUUCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAU CCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUAACCUGGGCCGGC UGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUAACAAC AAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUAACGGCAAGGA CAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCTGGUUCCTCGGUCCAAGAAGCAGCGGA UCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUAAGGAGCGGAACCUGAACGACACCTGGUACGUGAACCGGUUC CUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCGGAUGCGGCUGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCC AGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCU GGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUACCTGGUUCGUGCGGUACAAGGAG AUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCTCCA GCCCUGGGAGUUCUUCGCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCTCGACGGCAAGCTCGAGUUCGAG GAGGCCGACACCTCGAGAAGCUGCGGACCTUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACG AGUACGUGACCTCCUGUUCGUGUCCCGGGCTCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCCAGGGCCACAUGGAGACCGUG AAGUCCGCCAAGCGGCUGGACGAGGGCGUGUCCGUGCUGCGGGUGCTCCUGACCTAGCUGAAGCUGAAGGACC UGGAGAAGAUGGUGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCUGUACGAGGCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCCAAA GGACGACCTCGCCAAGGCCUUCGCCGAGCCCUUCUACAAGUACGACAAGGCCGGCAACCGGACCTAGCAGGUGA AGGCCGUGCGGGUGGAGCAGGUGCAGAAGACCGGCGUGUGGGUGCGGAACCAACAACGGCAUCGCCGACAACGC CACCAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCGAGAAGGGCGACAAGUACUACCUGGUGCCCAUCUACUCCUGGCAGGUG GCCAAGGGCAUCCUGCTCGACCGGGCCGUGGUGGCCUACGCCGACGAGGAGGACUGGACCGUGAUCGACGAGU CCUUCCTGGUUAAGUUCGUGCUGUACUCCAACGACCUGAUCAAGGUGCAGCUGAAGAAGGACUCCUUCCTGGC UACUUCUCCGGCCUGGACCGGGCCACCGGCGCCAUCUCCUGCGGGAGCACGACCUGGAGAAGUCCAAGGGCAA GGACGGCAUGCACCGGAUCGGCGUGAAGACCGCTCCUGUCCUCCAGAAGUACCAGAUCGACGAGAUGGGCAAGG
--	--	--

		AGA UCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCGAGUCCGUGUCCGG CUGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUAG
--	--	--

Tabla 4B: Secuencias adicionales

G000502 (sin modificar)	758	ACACAAAUACCAGUCCAGCGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU
G000502	759	mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGCGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmA mCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
ARNWT-145	760	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCTCCCTTTCTCATTTTCGGAACGAAATGAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAG ATGTGCCGCAACGCTCTGCCCCTTAAAGCTTCTGCTTTAAGGGGCATCGTTTAT
ARN9-102	761	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCCTTCTGAAAAGAAGGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCTTC TGCATCGTtt
ARN7-106	762	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCTCCCTCTGAAAAGCCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTG CTTCTGCATCGTtt
ARN8-106	763	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCTCCCTTTCTGAAAAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGC TCTGCTTCTGCAtt
ARN6-110	764	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCTCCCTTTCTGAAAAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGC TCTGCTTCTGCATCGTtt
ARN6b-110	765	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCCTTCTCATTGAAAAATGAGAAGGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGC TCTGCTTCTGCATCGttt
ARN5-112	766	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCTCCCTCTGAAAAGCCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTG CCCCTTTTCTAAGGGGCAtt
ARN4-116	767	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCTCCCTTTCTGAAAAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGC TCTGCCCCTTTTCTAAGGGGCAtt
ARN3-122	768	gGGGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCTCCCTTTCTCAGGAACTGAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGC

		CGCAACGCTCTGCCCCCTTTTCTAAGGGGCAT
ARN2-126	769	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCTCCCTTCTCAGGAACTGAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGC AACGCTCTGCCCCCTtTTCTAAGGGGCATCGtttT
ARN17-101	770	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGttGtAGCtCCctGAAACCGttGctACAAtAAGGCCGtGAAAAtGtGCCGCAACGctCtGCCttCtGGCAtCGtttT
ARN18-103	771	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGttGtAGCtCCctGAAACCGttGctACAAtAAGGCCGtCGAAAGAtGtGCCGCAACGctCtGCCttCtGGCAtCGttt T
ARN15-105	772	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGttGtAGCtCCctGAAACCGttGctACAAtAAGGCCGtGAAAAtGtGCCGCAACGctCtGCCGttCtGCGGCAtC GtttT
ARN16-105	773	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGttGtAGCtCCctGAAACCGttGctACAAtAAGGCCGtCtGAAAAGAtGtGCCGCAACGctCtGCCttCtGGCAtCG tttT
ARN13-107	774	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGttGtAGCtCCctCGGAAACGACCGttGctACAAtAAGGCCGtGAAAAtGtGCCGCAACGctCtGCCttCtGGCAt CGtttT
ARN14-109	775	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGttGtAGCtCCctGAAACCGttGctACAAtAAGGCCGtCtGAAAAGAtGtGCCGCAACGctCtGCCGcttCtGCGG CAtCGtttT
ARN12-111	776	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGttGtAGCtCCctCGGAAACGACCGttGctACAAtAAGGCCGtCtGAAAAGAtGtGCCGCAACGctCtGCCttCtG GCAtCGtttT
ARN11-113	777	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGttGtAGCtCCctCGGAAACGACCGttGctACAAtAAGGCCGtGAAAAtGtGCCGCAACGctCtGCCGcttCtGC GGCAtCGtttTTT
ARN10-115	778	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGttGtAGCtCCctCGGAAACGACCGttGctACAAtAAGGCCGtCtGAAAAGAtGtGCCGCAACGctCtGCCGctt CtGCGGCAtCGtttT
R10B-111	779	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCTCCCTTGGAACACCGTTGCTACAATAAGGCCGTTGAAAAATGTGCCGCAACGCTCTGCC CTTCTGGGCATCGTTTTT
R10E-109	780	GGCGCTTCGCCAGCCATTCTGCGTTGTAGCTCCCTTGGAACACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCGAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGC CCTTCTGGGCATCGTTTT

R10F-113	781	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTGGAACACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTG CCGCTTCTGCGGCATCGTTTT
R10G-113	782	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTCGGAAACGACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCT CTGCCGTTCTCGGCATCGTTTT
R10H-113	783	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTCGGAAACGACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCT CTGCCCTTCTGGGCATCGTTTT
R10I-113	784	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTCGGAAACGACCGTTGCTACAATAAGGCCGTGAAAAATGTGCCGCAACGCTCTG CCGCTTCTGCGGCATCGTTTT
R10J-113	785	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTCGGAAACGACCGTTGCTACAATAAGGCCGTGAAAGATGTGCCGCAACGCTCT GCCGCTTCTGCGGCATCGTTTT
R19-112	786	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTCGGAACGACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAGATGTGCCGCAACGCTCT GCCGCTCTGCGGCATCGTTTT
ES99	787	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCGAAACGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCTTCTG CATCGTT
ES121	788	gGGGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCGAAACGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCC CCTTAAAGCTTCTGCTTTAAGGGGCATCGTTTA
ES111	789	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCGAAACGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCCCTT TTCTAAGGGGCATCGTTTA
ES105	790	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCGAAACGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCTtCTGC ATCGTTTAtttT
	791-799	No utilizado
G023066	800	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023067	801	mC*mU*mU*mCmACcmAmGGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC

		CmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023068	802	mC*mU*mU*mCmACcmAmAGmAGmAAGCCmGUAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023069	803	CUUCACCAGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmA mUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023070	804	mC*mU*mU*CACCAGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023071	805	mC*mU*mU*mCACCAGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023072	806	mC*mU*mU*mCACCAGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023073	807	mC*mU*mU*CACCmGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023074	808	mC*mU*mU*CACCAGGmAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023075	809	mC*mU*mU*CACCAGGAGmAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023076	810	mC*mU*mU*CACCAGGAGAAGCCmGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023077	811	mC*mU*mU*CACCAGGAGAAGCCGUAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023078	812	mC*mU*mU*mCACCmAmGGmAGmAAGCCmGUAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023079	813	mC*mU*mU*mCACCmAmGGmAGmAAGCCmGUAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC

		mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023080	814	mC*mU*mU*mCmACCAmGGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023081	815	mC*mU*mU*mCmACCAmGGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023082	816	mC*mU*mU*mCmACCAmGGAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023083	817	mC*mU*mU*mCmACCAmGGmAGAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023084	818	mC*mU*mU*mCmACCAmGGmAGmAAGCCGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023085	819	mC*mU*mU*mCmACCAmGGmAGmAAGCCmGUACACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023086	820	CUUCACCAAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmA mUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023087	821	mC*mU*mU*CACCAAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023088	822	mC*mU*mU*mCACCAAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023089	823	mC*mU*mU*CmACCAAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023090	824	mC*mU*mU*CACCAmAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023091	825	mC*mU*mU*CACCAAGmAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L

		1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023092	826	mC*mU*mU*CACCAAGAGmAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023093	827	mC*mU*mU*CACCAAGAGAAGCCmGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023094	828	mC*mU*mU*CACCAAGAGAAGCCGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023095	829	mC*mU*mU*CmACCMAmAGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023096	830	mC*mU*mU*mCACCMAmAGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023097	831	mC*mU*mU*mCmACCMAmAGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023098	832	mC*mU*mU*mCmACCMmAGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023099	833	mC*mU*mU*mCmACCMAmAGAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023100	834	mC*mU*mU*mCmACCMAmAGmAGAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023101	835	mC*mU*mU*mCmACCMAmAGmAGmAAGCCGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023102	836	mC*mU*mU*mCmACCMAmAGmAGmAAGCCmGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023103	837	CCAAGUGUCUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmA

		mUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023104	838	mC*mC*mA*AGUGUCUUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023105	839	mC*mC*mA*AmGUGUCUUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023106	840	mC*mC*mA*AmGUGUCUUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023107	841	mC*mC*mA*AGUGUmCUUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023108	842	mC*mC*mA*AGUGUCUmUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023109	843	mC*mC*mA*AGUGUCUUCmCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023110	844	mC*mC*mA*AGUGUCUUCCAGUAmCGAUUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023111	845	mC*mC*mA*AGUGUCUUCCAGUACGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023112	846	mC*mC*mA*AmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023113	847	mC*mC*mA*AmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023114	848	mC*mC*mA*AmGUGUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023115	849	mC*mC*mA*AmGUGmUCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC

		mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023116	850	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023117	851	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023118	852	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUACGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023119	853	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023120	854	mC*mU*mU*CACCmAGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023121	855	mC*mU*mU*CACCmAAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G023122	856	mC*mC*mA*AGUGmUCUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC(L 1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
TR018227	857	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCG UUU*mA*mU*mU
TR018228	858	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCGUU U*mA*mU*mU
TR018229	859	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUGAAAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCGUUU* mA*mU*mU
TR018230	860	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGAAAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCGUUU*mA *mU*mU
TR018231	861	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGAAAGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCGUUU*mA*m

		U*mU
TR018232	862	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGUUCUCUUAAGGGCAUCGUU U*mA*mU*mU
TR018233	863	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAUUCUUUAAGGGCAUCGUUU* mA*mU*mU
TR018234	864	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAUUCUUAAGGGCAUCGUUU*mA* mU*mU
TR018235	865	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUUUCUAAGGGCAUCGUUU*mA*m U*mU
TR018236	866	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUUCUAGGGCAUCGUUU*mA*mU*m U
TR018237	867	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUCUGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018238	868	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018239	869	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCUUCUGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018240	870	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGUUCUCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018241	871	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUGAAAAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018242	872	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCG *mU*mU*mU
CR018648	873	mA*mC*mU*mCmACUmCmAmCmCCmACmACmAmGACAmCmCmGUUmGmUmAmGmCmUCCcmU*mU*mU*mC*mU*mC*mA*mU*mC*m G
CR018656	874	mG*mU*mG*mUmGUCmCmCmUmCUmCCmCCmAmCCCGmUCmCmGUUmGmUmAmGmCmUCCcmU*mU*mU*mC*U*mC*mA*mU*mC*m G
CR018473	875	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUUUCUCA*mU*mC*mG
CR018474	876	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCmUCCcmUmUmUmCmUmCmA*mU*mC*mG

CR018475	877	mG*mU*mG*mUmGmUCCcmUmCmUmCmCCCmAmCCCGmUCCGUUGUAGCUCCCUUUCUCA*mU*mC*mG
CR018476	878	mG*mU*mG*mUmGmUCCcmUmCmUmCmCCCmAmCCCGmUCCmGUUGmUmAmGmCmUCCcmUmUmUmCmUmCmA*mU*mC*mG
TR018477	879	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUA AGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018478	880	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmGmAmAmAGCUUA AGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018479	881	mCmGmAUGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAA GGGCAUCGUUmUmAmU
TR018480	882	mC*mG*mA*UGAGAAAGGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUA AGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018481	883	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUA AGGGCAUCGU*U*mU*mU
TR018482	884	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUA AGGGCAUCGU*mU*mU*mU
TR018483	885	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUA AGGGCAUCG*mU*mU*mU
TR018484	886	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmA mCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU
TR018485	887	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmAmGGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmA mCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU
TR018486	888	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmA mCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCG*mU*mU*mU
TR018487	889	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmAmCmG mCmUmCmUmGmCmCCmUmUmCmUmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU

TR018488	890	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmCmUmGmGCAUCG*mU*mU*mU
TR018489	891	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018490	892	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018491	893	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU
TR018492	894	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018493	895	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU
TR018494	896	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU
TR018495	897	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUmGmCUACAmAmUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018496	898	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGmUmGmCmCmGmCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018497	899	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCmAmUmCmGmUmU*mU*mA*mU
TR018498	900	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUmGmCUACAmAmUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGmUmGmCmCGmCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018499	901	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUmGmCUACAmAmUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCmAmUmCmGmUmU*mU*mA*mU

TR018500	902	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAmAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGmUmGmCmCGmCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGmCmAmUmCmGmUmU*mU*mA*mU
G027492	903	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G027493	904	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmGmAmAmAmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G027494	905	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmGmAmAmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G027495	906	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmAmAmAGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G027496	907	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmAmAmAGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G024103	908	mC*mA*mA*mGmUCUmGmUCmUGmCCUUmUCACmCGAmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G024104	909	mG*mG*mU*mGmAAUmAmGGmCAmGACAGmACUUmGUCmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G024108	910	mG*mA*mU*mUmAAAmCmCCmGGmCCACUmUUCAmGGAmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G024109	911	mC*mA*mG*mUmGACmAmAGmUCmUGUCUmGCCUmAUUmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G024110	912	mG*mU*mU*mGmAAGmGmCGmUUmUGCACmAUGCmAAAmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G024111	913	mU*mC*mC*mUmGUGmAmUGmUCmAAGCmGGUCmGAGmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU

G024112	914	mC*mA*mG*mGmUUUmUmGAmAAmGUUUAmGGUUmCGUmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G024113	915	mA*mU*mC*mAmGAUmUmCCmUUUmACUUUmGUGAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCC mGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G024114	916	mG*mA*mA*mGmUCCmAmUAmGAmCCUCAmUGUCmUAGmGUUGmUmAmGmCUCCcmU(L1)mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmC CmGmUmC(L1)mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC(L1)GGCAUCG*mU*mU
G028844	917	mU*mG*mU*mCmUGCmCmUAmUUUmCACCGmAUUUUmUGAmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028845	918	mU*mG*mC*mCmUAUmUmCmAmCCmGAUUUmUGAUmUCUmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028846	919	mC*mG*mA*mUmUUUmGmAUmUCmUCAAAmCAAAmUGUmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028847	920	mG*mU*mA*mAmGGAmUmUCmUGmAUGUGmUAUAmUCAmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028848	921	mA*mG*mA*mGmCAAmCmAGmUGmCUGUGmGCCUmGGAmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028849	922	mU*mG*mG*mAmGCmAmCmAAmUCUGAmCUUUUmGCmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028850	923	mA*mU*mG*mCmUGUmUmGUmUGmAAGGCmGUUUUmGCmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*A AGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028851	924	mU*mU*mU*mUmGAAmAmGUmUUUmAGGUUmCGUAmUCUmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028852	925	mU*mU*mA*mCmUUUmGmUGmACmACAUmUGUUmUGAmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU

G028853	926	mG*mA*mU*mUmAAAmCmCCmGGmCCACUmUUCAmGGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G021469	927	mA*mU*mA*mUmCCAmGmAAmCCmCUGACmCCUGmCCGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G024739	928	mA*mG*mG*mAmCCAmGmCCmUCmAGACAmCAAUmUACmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G024741	929	mC*mU*mG*mCmCUCmGmGAmCGmGCAUCmUAGAmACUmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G024743	930	mA*mG*mG*mCmAGAmGmGAmGGmAGCAGmACGAmUGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029377	931	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029378	932	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCmAmAU AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029379	933	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAmAUA AGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029380	934	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCmAmAU *AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029381	935	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAdTAA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029382	936	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029383	937	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU

G029384	938	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029385	939	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029386	940	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029387	941	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029388	942	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUmCmG*mU*mU
G029389	943	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCmAmUmCmG*mU*mU
G029390	944	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmUmUmCmUGGCmAmUmCmG*mU*mU
G029391	945	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmUmUmCmUGGCAUmCmG*mU*mU
G029392	946	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AA GmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUmCmG*mU*mU
G024739	947	AGGACCAGCCUCAGACACAAAUACGUUGUAGCUCGCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU
G024741	948	CUGCCUCGGACGGCAUCUAGAACUGUUGUAGCUCGCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU
G024743	949	AGGCAGAGGAGGAGCAGACGAUGAGUUGUAGCUCGCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGC CUUCUGGCAUCGUU

[00576] Se entiende que si se hace referencia en la presente a una secuencia de ADN (que comprende Ts) con respecto a un ARN, entonces Ts debe reemplazarse con Us (que puede modificarse o no según el contexto), y viceversa.

[00577] Las modificaciones de nucleótidos se indican en las Tablas 4 de la siguiente manera: m: 2'-OMe; *: enlace de PS; f: 2'-fluoro; (inv): abásico invertido; moe: 2'-moe; e: ENA; d: desoxirribonucleótido (tenga en cuenta también que T es siempre un desoxirribonucleótido); x: UNA. En las secuencias modificadas de ARN_{gu}, en determinadas modalidades, cada A, C, G, U y N es independientemente un azúcar ribosa (2'-OH). En determinadas modalidades, cada A, C, G, U y N es un azúcar ribosa (2'-OH). Así, por ejemplo, mA representa 2'-O-metil adenosina; xA representa un nucleótido UNA con una nucleobase adenina; eA representa un nucleótido ENA con una nucleobase adenina; y dA representa un desoxirribonucleótido de adenosina. Tal como se utilizan en la presente, (L1) hace referencia a un enlazador interno con una longitud de puente de alrededor de 15 a 21 átomos.

[00578] Las designaciones de ARN_{gu} a veces se proporcionan con uno o más ceros iniciales inmediatamente después de la G. Esto no afecta al significado de la designación. Así, por ejemplo, G000282, G0282, G00282 y G282 se refieren al mismo ARN_{gu}. Del mismo modo, las designaciones de ARN_{cr} y/o ARN_{tr} a veces se proporcionan con uno o más ceros iniciales inmediatamente después de CR o TR, respectivamente, lo que no afecta el significado de la designación. Así, por ejemplo, CR000100, CR00100, CR0100 y CR100 se refieren al mismo ARN_{cr}, y TR000200, TR00200, TR0200 y TR200 se refieren al mismo ARN_{tr}.

EJEMPLOS

[00579] Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar ciertas modalidades descritas y no deben interpretarse como limitantes del alcance de esta descripción de ninguna manera.

Ejemplo 1. Materiales y métodos5 ***Transcripción in vitro ("IVT") de ARNm de nucleasa***

[00580] Se generó ARNm protegido y poliadenilado que contenía N1-metil pseudo-U mediante transcripción in vitro utilizando métodos de rutina. Por ejemplo, un ADN plasmídico que contiene un promotor T7, una secuencia para la transcripción y una región de poliadenilación se linealizó con XbaI según el protocolo del fabricante. El XbaI se inactivó mediante calentamiento. El plásmido linealizado se purificó a partir de sales de amortiguador y enzimáticas. Se llevó a cabo la reacción IVT para generar ARNm modificado mediante incubación a 37 °C, 50 ng/μL de plásmido linealizado; GTP, ATP, CTP y N1-metil pseudo-UTP (Trilink) con una concentración de 2-5 mM; ARCA 10-25 mM (Trilink); 5 U/μL de ARN polimerasa T7; 1 U/μL de inhibidor de ribonucleasa murina (NEB); 0,004 U/μL de pirofosfatasa inorgánica de E. coli (NEB); y 1x de amortiguador de reacción. Se añadió TURBO DNasa (ThermoFisher) a una concentración final de 0,01 U/μl y la reacción se incubó a 37 °C para eliminar la plantilla de ADN.

[00581] El ARNm se purificó utilizando un kit de limpieza de transcripción MegaClear (ThermoFisher) o un kit RNeasy Maxi (Qiagen) según los protocolos de los fabricantes. De manera alternativa, 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 purificó mediante precipitación con LiCl, precipitación con acetato de amonio y precipitación con acetato de sodio. Para el ARNm purificado por HPLC, después de la precipitación y reconstitución con LiCl, el ARNm se purificó mediante HPLC RP-IP (véase, por ejemplo, Kariko, et al. Nucleic Acids Research, 2011, Vol. 39, n.º 21 e42). Las fracciones elegidas para la combinación se combinaron y desalinizaron mediante precipitación con acetato de sodio/etanol como se describió anteriormente. En otro método alternativo, el ARNm se purificó con un método de precipitación con LiCl seguido de una purificación adicional mediante filtración de flujo tangencial. Las concentraciones de ARN se determinaron midiendo la absorbancia de la luz a 260 nm (Nanodrop) y las transcripciones se analizaron mediante electroforesis capilar mediante Bioanalyzer (Agilent).

[00582] El ARNm de Cas9 de *Streptococcus pyogenes* ("Spy") se generó a partir de ADN plasmídico que codifica un marco abierto de lectura de acuerdo con las SEQ ID NO: 661-665 (ver secuencias en la Tabla 4A). Cuando se hace referencia a las secuencias citadas en este párrafo a continuación con respecto a los ARN, se entiende que Ts debe reemplazarse con Us (que pueden ser nucleósidos modificados como se describió anteriormente). Los ARN mensajeros utilizados en los Ejemplos incluyen un casquete de 5' y una secuencia de poliadenilación de 3', por ejemplo, hasta 100 nts y se identifican en la Tabla 4A. Los ARN guía se sintetizan químicamente mediante métodos conocidos en la técnica.

[00583] Proveedores comerciales sintetizaron químicamente el ARN guía o se usaron técnicas de síntesis in vitro con nucleótidos modificados.

Preparación de células de hepatocitos.

40 [00584] Los hepatocitos primarios de ratón (PMH), los hepatocitos primarios de rata (PRH), los hepatocitos primarios humanos (PHH) y los hepatocitos primarios de cynomolgus (PCH) se prepararon de la siguiente manera. PMH (Gibco, MCM837, a menos que se especifique lo contrario), PRH (Gibco, Rs977, a menos que se especifique lo contrario), PCH (In Vitro ADMET Laboratories, 10136011, a menos que se especifique lo contrario), PHH (Gibco, Hu8284, a menos que se especifique lo contrario)

45 Se descongelaron y resuspendieron en 50 mL de medio de recuperación de hepatocitos criopreservados

(CHRM) (Invitrogen, CM7000) seguido de centrifugación. Las células se resuspendieron en medio de hepatocitos con suplementos de recubrimiento: suplementos de recubrimiento de medio E de Williams con contenido de FBS (Gibco, Cat. A13450). Las células se sedimentaron mediante centrifugación, se resuspendieron en medio y se sembraron en placas a una densidad de 20 000 células/pocillo para PMH y 30 000 para PHH en placas de 96 pocillos recubiertas con colágeno Bio-coat I (Corning n.º 354407). Se permitió que las células colocadas en placas se asentaran y se adhirieran durante 4-6 horas en una incubadora de cultivo tisular a 37 °C y atmósfera de CO₂ al 5 %. Luego de la incubación se evaluaron las células para determinar la formación de una monocapa y se lavaron una vez y se colocaron en placas con medio de mantenimiento de hepatocitos 100 µL: medio de Williams' E (Gibco, Cat. A12176-01) más un paquete complementario (Gibco, Cat. CM3000).

Preparación de células HEK

[00585] Se descongelaron células HEK-293 (ATCC, CRL-1573, a menos que se especifique lo contrario) y se resuspendieron en medio Eagle modificado por Dulbecco sin suero (Corning n.º 10-013-CV) con un contenido de FBS del 10 % (Gibco n.º A31605-02) y Penicilina-Estreptomicina al 1 % (Gibco n.º 15070063). Las células se contaron y se sembraron en medio Eagle modificado por Dulbecco (Corning n.º 10-013-CV) con un contenido de FBS al 10 % (Gibco n.º A31605-02) en una placa de cultivo de tejidos de 96 pocillos (Falcon, n.º 353072). Se permitió que las células colocadas en placas se asentaran y se adhirieran durante 18 horas en una incubadora de cultivo tisular a 37 °C y atmósfera de CO₂ al 5%.

Preparación de formulación de LNP que contiene ARN_gu y ARN_m de Cas9

[00586] En general, los componentes de las nanopartículas lipídicas se disolvieron en etanol al 100 % en diversas relaciones molares. Los cargamentos de ARN (por ejemplo, ARN_m Cas9 y ARN_gu) se disolvieron en citrato 25 mM, NaCl 100 mM, pH 5,0, lo que tiene como resultado una concentración de carga de ARN de aproximadamente 0,45 mg/mL. Las LNP utilizadas contenían lípidos ionizables octadeca-9,12-dienoato de (9Z,12Z)-3-((4,4-bis(octiloxi)butanoil)oxi)-2-((((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propilo, también denominado (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoato de 3-((4,4-bis(octiloxi)butanoil)oxi)-2-((((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propilo), también llamado aquí lípido A, colesterol, distearoil fosfatidilcolina (DSPC), y 1,2-dimiristoil-rac-glicero-3-metilpolioxietilenglicol 2000 (PEG2k-DMG) en una proporción molar de 50% de lípido A, colesterol al 38 %, DSPC al 9 %, y PEG2k-DMG al 3%. Las LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N:P) de alrededor de 6. Los LNP utilizados comprenden una única especie de ARN, como el ARN_m de Cas9 o un ARN_gu. Las LNP se preparan de manera similar con una mezcla de ARN_m de Cas9 y un ARN guía.

[00587] Las LNP se prepararon utilizando una técnica de flujo cruzado utilizando una mezcla de chorro de lípido en etanol con dos volúmenes de una solución de ARN y un volumen de agua. En primer lugar, el lípido en etanol se mezcló mediante una mezcla cruzada con los dos volúmenes de solución de ARN. Luego, se mezcló una cuarta corriente de agua con la corriente de salida de la cruz a través de una T en línea (Véase WO2016010840 FIG. 2.). Las LNP se mantuvieron durante 1 hora a temperatura ambiente y se diluyeron adicionalmente con agua (aproximadamente 1:1 v/v). Las LNP diluidas se intercambiaron con tampón en Tris 50 mM, NaCl 45 mM, sacarosa al 5 % (p/v), pH 7,5 (TSS) y se concentraron según fuera necesario mediante métodos conocidos en la técnica. Luego se filtró la mezcla resultante usando un filtro estéril de 0,2 µm. Las LNP finales se caracterizaron para determinar la eficacia de encapsulación, el índice de polidispersidad y el tamaño promedio de partícula. La LNP final se almacenó a 4 °C o -80 °C hasta su uso posterior.

Lipoinfección por ARNm de Cas9 y ARNg

[00588] Lipofección de ARNm de Cas9 y los ARNg utilizó formulaciones lipídicas premezcladas. El reactivo de lipofección contenía lípido A ionizable, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG en una proporción molar de 50 % de lípido A, colesterol al 38 %, 9 % de DSPC y PEG2k-DMG al 3 %. Esta mezcla se reconstituyó en etanol al 100 % y luego se mezcló con ARN (por ejemplo, ARNm Cas9 y ARNg) en una proporción molar de lípidos de amina a fosfato de ARN (N:P) de alrededor de 6,0.

Secuenciación de última generación ("NGS") y análisis para determinar la eficacia de edición

[00589] El ADN genómico se extrajo utilizando un kit comercial según el protocolo del fabricante, por ejemplo, QuickExtract™ DNA Extraction Solution (Lucigen, Cat. QE09050). Para determinar cuantitativamente la eficacia de la edición en la ubicación objetivo del genoma, se utilizó una secuenciación profunda para identificar la presencia de inserciones y eliminaciones introducidas por la edición de genes. Se diseñaron cebadores de PCR alrededor del sitio objetivo dentro del gen de interés (por ejemplo, TRAC) y se amplificó el área genómica de interés. El diseño de la secuencia del cebador se realizó como es estándar en la técnica.

[00590] Se realizó una PCR adicional según los protocolos del fabricante (Illumina) para agregar química para la secuenciación. Los amplicones se secuenciaron en un instrumento Illumina MiSeq. Las lecturas se alinearon con el genoma de referencia (por ejemplo, hg38) después de eliminar aquellas que tenían puntuaciones de calidad bajas. Las lecturas que se superponían a la región objetivo de interés se realinearon con la secuencia del genoma local para mejorar la alineación. Luego se calculó el número de lecturas de tipo salvaje versus el número de lecturas que contienen mutaciones de C a T, mutaciones de C a A/G o indeles. Las inserciones y eliminaciones se puntuaron en una región de 20 pb centrada en el sitio de escisión de Cas9 previsto. El porcentaje de indel se define como el número total de lecturas de secuenciación con una o más bases insertadas o eliminadas dentro de la región de puntuación de 20 pb dividido por el número total de lecturas de secuenciación, incluido el tipo salvaje. Las mutaciones de C a T o las mutaciones de C a A/G se puntuaron en una región de 40 pb que incluía 10 pb en sentido ascendente y 10 pb en sentido descendente de la secuencia objetivo de ARNg de 20 pb. El porcentaje de edición de C a T se define como el número total de lecturas de secuenciación con una o más mutaciones de C a T dentro de la región de 40 pb dividido entre el número total de lecturas de secuenciación, incluido el tipo salvaje. El porcentaje de mutaciones de C a A/G se calcula de manera similar.

Ejemplo 2. Edición in vitro con guías de NmeCas9 truncadas en células de riñón embrionario humano (HEK)

[00591] Se diseñaron y se evaluaron ARNg de Nme-Cas9 truncados dirigidos al gen SEAP para evaluar el impacto de cada modificación en la funcionalidad de la guía. Las modificaciones en las guías que mantuvieron su eficacia de edición se consideraron bien toleradas y se incluyeron en estudios futuros.

Ejemplo 2.1 Evaluación de plásmidos de patrones de modificación de ARNg

Preparación de células HEK

[00592] Las células HEK-Blue™, una línea celular indicadora HEK con un indicador SEAP, de (Invivogen, Cat. hkb-il1b) se descongelaron y se resuspendieron en 15 mL de medio de crecimiento (DMEM, glucosa 4,5 g/l, L-glutamina 2 mM, suero bovino fetal (FBS) al 10 % (v/v), penicilina 50 U/mL, estreptomycin 50 mg/mL, Normocin™ 100 mg/mL seguido de centrifugación. Se descartó el sobrenadante y las células sedimentadas se resuspendieron en medio de crecimiento. Las células se sembraron a una densidad de 10.000 células/pocillo en una placa de cultivo de tejidos de 96 pocillos (Falcon, n.º 353072) con medio de prueba: DMEM, 4,5 g/l de glucosa, L-glutamina 2 mM, 10 % (v/v).

FBS inactivado por calor (30 min a 56 °C), penicilina 50 U/mL, 50 mg/mL, estreptomicina, Normocin™ 100 mg/mL). Se dejó que las células en placas se asentaran y se adhirieran durante 18 horas en una incubadora de cultivo de tejidos a 37 °C y una atmósfera de CO₂ al 5%.

Transfección a base de plásmidos

[00593] Se diseñaron y clonaron variantes de truncamiento de ARNgu de NmeCas9, con una complementariedad idéntica de 23 nt con el casete SEAP de las células HEK-Blue™, pero con diferentes truncamientos de andamiajes de ARNgu utilizando métodos estándar de ensamblaje de Gibson para la generación de plásmidos. La reacción final del plásmido se sembró en placas de caldo Luria (LB) (Teknova, L8000) suplementadas con ampicilina (Teknova, L5104) y se incubó en una incubadora de cultivo de tejidos a 37 °C. Se inocularon colonias de plásmidos en placas de caldo Luria de 4 mL (Teknova, L8000) suplementadas con ampicilina 100 ug/mL (Teknova, A2135) y se incubaron a 37 °C durante la noche. Los plásmidos se purificaron según las instrucciones del fabricante utilizando el kit de purificación de plásmidos Zyppy (Zymo Research, D4036).

[00594] Después de la incubación, las concentraciones de plásmido se midieron utilizando el ensayo Qubit HS (Invitrogen, n.º de catálogo Q32851) y se diluyeron a 50 ng/µl. El ADN plasmídico para cada ARNgu y un plásmido de transfección pcDNA3.1 que codifica Nme1Cas9 (SEQ ID NO: 645) se diluyeron en Opti-MEM (Thermo Fisher, L3000015) y se lipoplexaron usando Lipofectamine 3000 (Thermo Fisher, n.º de catálogo 51985091) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Brevemente, la mezcla de lipofectamina-ADN se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Después de la incubación, se añadieron 10 µl de la mezcla a células HEK-Blue™ y se incubaron en una incubadora de cultivo de tejidos a 37 °C y una atmósfera de CO₂ al 5 % durante 72 horas. Luego de la transfección, las células se recolectaron. Se llevó a cabo el aislamiento de ADN genómico y el análisis de NGS como se describen en el Ejemplo 1.

[00595] La eficacia de edición se determinó para diseños de ARNgu no modificados con una complementariedad de 23 nt idéntica a los loci SEAP, pero con diferentes truncamientos del andamiaje de ARNgu. Los ensayos se realizaron en tres rondas iterativas de selección para identificar truncamientos que alteraban la eficacia de la edición, ya sea solos o en combinación. Las células se prepararon y analizaron utilizando los mismos protocolos y el plásmido de control (ARNWT-145). Se incluyeron muestras triplicado en cada ensayo. Los resultados medios de edición con desviación estándar (SD) se muestran en la Tabla 5 y en la Fig. 1. Los niveles relativamente bajos de eficacia de edición observados pueden deberse a que los ARNgu de SEAP editan tanto el gen SEAP humano endógeno como el casete de expresión de SEAP exógeno diseñado en las células HEK-Blue™ Los cebadores NGS se diseñaron de manera que solo se cuantificaran los eventos de edición en el locus SEAP exógeno. Sin embargo, no se espera que la edición en los loci endógenos cambie los niveles de edición relativos leídos en el locus SEAP exógeno utilizando ARNgu de SEAP truncados.

Tabla 5. Porcentaje medio de edición en células HEK-Blue™

Experimento	ID de plásmido	% medio de edición	SD
Ronda 1	ARNWT-145	6,8	0,3
	ARN9-102	0,3	0,0
	ARN7-106	5,0	0,6
	ARN8-106	0,6	0,2
	ARN6-110	4,3	0,6
	ARN6b-110	0,4	0,0
	ARN5-112	0,4	0,1
	ARN4-116	0,6	0,3

Experimento	ID de plásmido	% medio de edición	SD
	ARN3-122	1,9	0,1
	ARN2-126	6,6	0,3
	ES-100	4,6	1,7
	ES-121	5,0	0,8
Ronda 2	ARNWT-145	7,5	0,8
	ARN17-101	3,7	0,5
	ARN18-103	4,4	0,4
	ARN15-105	0,1	0,0
	ARN16-105	4,2	0,2
	ARN13-107	4,1	0,4
	ARN14-109	6,4	0,5
	ARN12-111	8,3	0,8
	ARN11-113	6,9	1,0
	ARN10-115	10,2	0,6
Ronda 3	ARNWT-145	10,5	1,0
	R10B-111	7,6	1,2
	R10E-109	8,7	1,2
	R10F-113	5,7	0,5
	R10G-113	4,6	0,6
	R10H-113	5,4	0,8
	R10I-113	4,4	1,1
	R10J-113	3,2	0,9
	R19-112	4,7	0,9

Ejemplo 2.2. Evaluación de modificaciones químicas de ARNg en células HEK-293.

[00596] Los patrones de modificación de guías de ARNgu truncados seleccionados probados en el estudio descrito anteriormente se evaluaron más a fondo para evaluar el impacto de las modificaciones en la eficacia de edición de guías. Se diseñó una línea celular estable que expresa Nme2 Cas9 a partir de una construcción de expresión lentiviral, denominada en el presente documento HEK-Nme2, para la expresión constitutiva de Nme2 Cas9.

Preparación de células HEK

[00597] Las células HEK-293 (ATCC, CRL-1573) se descongelaron en medio de mantenimiento (DMEM (Corning, n.º 10-013-CV), FBS al 10 % (Gibco, n.º A31605-02)). Luego, las células se sembraron en placas a una densidad celular de 200.000 células por pocillo en placas de 6 pocillos (Corning, n.º 353046) en medio Eagle modificado por Dulbecco (Corning n.º 10-013-CV) con un contenido de FBS del 10 % (Gibco, n.º A31605-02). Las células se transdujeron en presencia de polibreno (Millipore Sigma, TR-1003) siguiendo el protocolo del fabricante con el vector lentiviral Collecta n.º SVCRU617-L que codifica Nme2 Cas9 (SEQ ID NO: 640).

[00598] Las células se incubaron durante 10 días en una incubadora de cultivo de tejidos a 37 °C y una atmósfera de CO₂ al 5 %. Posteriormente, las células se lavaron, se procesaron en un clasificador de células (Sony Biotechnologies, SH800Z) y se analizaron utilizando el paquete de software FlowJo para luminiscencia de GFP. Para estudios posteriores se utilizaron mezclas policlonales de las células HEK-Nme2 seleccionadas preparadas con una MOI de 2.

[00599] Las células HEK-Nme2 transducidas descritas anteriormente se descongelaron y se resuspendieron en medio Eagle modificado por Dulbecco sin suero (Corning n.º 10-013-CV) con un

contenido de FBS del 10 % (Gibco n.º A31605-02) y penicilina-estreptomicina al 1 % (Gibco n.º 15070063). Las células se contaron y se colocaron en placas en una densidad de 20 000 células/pocillo en medio de cultivo Eagle de Dulbecco (Corning n.º 10-013-CV) con un contenido de FBS al 10 % (Gibco n.º A31605-02) en una placa de cultivo de tejidos de 96 pocillos (Falcon, n.º 353072). Se permitió que las células colocadas en placas se asentaran y se adhirieran durante 18 horas en una incubadora de cultivo tisular a 37 °C y atmósfera de CO₂ al 5 %.

Transfección celular usando MessengerMAX

[00600] Se evaluaron patrones de modificación de guías que consisten en modificaciones de 2'-O metilo (2'-OMe) y fosforotioato (PS) en el contexto de ARN_g para evaluar el impacto de las modificaciones en la eficacia de edición de guías.

[00601] Los ARN de guía dual truncados (ARN_{gd}) se crearon mediante el recocido de ARN_{tracr} truncados modificados con ARN_{cr} modificado dirigido a uno de los dos sitios en VEGFA (T25 o T47, sitios objetivo publicados previamente en el documento WO2019094791) en una mezcla de 1 µl de ARN_{cr} 100 µM, 1 µL 100 ARN_{tracr} µM y amortiguador dúplex de 8 uL (Integrated DNA Technologies, n.º 11-05-01-12). La solución de ARN_{tracr} y ARN_{cr} de Nme2-Cas9 se recoció a 95 °C durante 3 minutos, seguido de una disminución incremental de la temperatura de 0,1 C/s a 20 °C. Las muestras se mantuvieron en hielo hasta su uso. El ARN guía dual con una concentración inicial de 10 uM se diluyó en Opti-MEM (Thermo Fisher, n.º 51985091) para una concentración de 250 nM en 10 uL y se mezcló con Lipofectamine MessengerMAX (Invitrogen, catálogo n.º LMRNA001) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se añadió una alícuota de 20 uL de la solución a cada pocillo de cultivo de tejido para cada concentración y se incubó en una incubadora de cultivo de tejido a 37 °C y una atmósfera de CO₂ al 5 % durante 72 horas.

[00602] Después de la incubación, se aisló ADN genómico y se realizó análisis de NGS como se describe anteriormente.

[00603] La eficacia de edición se evaluó como se describe en el Ejemplo 1 para el ARN_{dg} que contiene los 16 ARN_{tracr} truncados (TR0#####) hibridados con los ARN_{cr} (CR0#####), indicados en la Tabla 6, dirigidos a los dos sitios genómicos (T25, T47) en el gen VEGFA a concentraciones de ARN_{gd} de 50 nM. Se incluyeron muestras duplicadas en el ensayo. Los resultados de media de edición con desviación estándar (SD) se muestran en la Tabla 6 y en la Fig. 2.

Tabla 6. Edición in vitro en células HEK-Nme2

ID de Tracr	Sitio 1 de VEGFA (T25-CR018648)		Sitio 2 de VEGFA (T47-CR018656)	
	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD
TR018227	7,1	0,1	26,0	2,1
TR018228	8,6	0,2	28,4	8,7
TR018229	4,9	1,1	25,7	6,3
TR018230	2,1	0,1	23,7	1,5
TR018231	1,1	0,2	23,6	5,2
TR018232	2,4	0,8	30,3	4,3
TR018233	2,2	0,6	26,8	1,6
TR018234	0,0	0,0	32,6	2,4
TR018235	6,1	0,2	20,3	3,4
TR018236	8,0	0,6	30,8	3,3
TR018237	0,1	0,1	0,3	0,1

ID de Tracr	Sitio 1 de VEGFA (T25-CR018648)		Sitio 2 de VEGFA (T47-CR018656)	
	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD
TR018238	5,5	0,0	32,6	2,3
TR018239	1,6	0,1	26,8	5,5
TR018240	1,0	0,2	9,4	2,5
TR018241	2,4	0,4	11,3	0,5
TR018242	2,4	0,4	34,3	2,2

Ejemplo 3. Edición in vitro con ARNgu de Nme2Cas9 modificados químicamente

Ejemplo 3.1 Evaluación de ARNgu modificado en células HEK-Nme2

[00604] Se evaluaron patrones de modificación de guías que consisten en modificaciones de 2'-O metilo (2'-OMe) y fosforotioato (PS) en el contexto de ARNgu para evaluar el impacto de las modificaciones en la eficacia de edición de guías.

Preparación de células HEK

[00605] Se prepararon células HEK-Nme2 como se describe en el Ejemplo 2. Las células se contaron y se sembraron en placas a una densidad de 30 000 células/pocillo (Falcon, n.º 353072). Las células se transfectaron como se describe en los Ejemplos 2.2. Setenta y dos horas después de la transfección, las células se prepararon para análisis NGS como se describe en el Ejemplo 1.

[00606] Se evaluó la eficacia de edición para 43 ARNgu modificados químicamente dirigidos al gen VEGFA en el sitio T47 como se describe en el Ejemplo 2.2. Se realizaron dos experimentos separados con muestras analizadas por triplicado en cada ensayo. Los resultados obtenidos en ambos experimentos fueron comparables, por lo que los resultados medios de edición con desviación estándar (SD) de un solo experimento se muestran en la Tabla 7 y la Fig. 3. "ND" en la tabla representa valores que no se pudieron determinar debido a un fallo experimental.

Tabla 7. Porcentaje medio de edición en células HEK-Nme2

ID de guía	% medio de edición	SD	ID de guía	% medio de edición	SD	ID de guía	% medio de edición	SD
G020031	3,9	1,0	G020046	28,1	5,1	G020060	6,3	0,5
G020032	20,4	1,3	G020047	12,6	3,0	G020061	11,1	5,8
G020033	1,1	0,0	G020048	13,5	4,2	G020062	4,2	2,0
G020034	15,5	1,4	G020049	1,1	0,1	G020063	ND	ND
G020035	1,4	0,2	G020050	11,1	1,7	G020064	25,7	2,9
G020036	14,4	2,3	G020051	12,9	3,3	G020065	ND	ND
G020037	13,8	0,9	G020052	5,8	1,3	G020066	37,5	4,4
G020038	5,9	1,8	G020053	20,0	4,2	G020067	39,0	5,5
G020039	20,0	5,0	G020054	46,6	8,2	G020068	54,3	2,5
G020040	47,2	5,0	G020055	34,7	2,2	G020069	28,2	3,8
G020041	45,3	5,5	G020056	17,6	2,9	G020070	1,5	0,4
G020042	54,3	5,1	G020057	9,5	3,3	G020071	43,3	5,5
G020043	42,7	11,3	G020058	14,3	2,0	G020072	48,3	2,6
G020044	54,5	0,5	G020059	6,6	3,7	G020073	61,5	1,2
G020045	5,7	3,9						

Ejemplo 3.2 Evaluación de patrones de modificación de ARNgu alternativos en células HEK-293

[00607] Se evaluaron ARNgu de Nme2 adicionales con patrones de modificación alternativos en células HEK-293 (ATCC, CRL-1573) para evaluar el impacto de modificaciones químicas adicionales en la eficacia de la edición de guías. Las células se prepararon y transfectaron como se describe en el Ejemplo 1, administrando 100 ng de ARNm y ARNgu de Nme2 a una concentración final de 50 nM. Las células se sembraron a una densidad de 15 000 células/pocillo. Setenta y dos horas después de la transfección, se aisló el ADN genómico y se analizó mediante NGS como se describe en el Ejemplo 1.

[00608] La eficacia de edición se evaluó para 54 ARNgu modificados químicamente que se dirigen al gen VEGFA en el sitio T47 como se proporcionó anteriormente. Se evaluaron muestras en triplicado en cada ensayo. Los resultados de media de edición con desviación estándar (SD) se muestran en la Tabla 8 y en la Fig. 4.

Tabla 8. Porcentaje medio de edición en células HEK-293

ID de guía	% medio de edición	SD	ID de guía	% medio de edición	SD	ID de guía	% medio de edición	SD
G020044	76,2	3,9	G020721	76,1	5,9	G020739	84,8	0,4
G020054	78,1	9,4	G020722	76,2	5,7	G020740	78,9	3,7
G020057	47,3	5,8	G020723	73,3	5,1	G020741	66,6	2,5
G020058	32,8	7,1	G020724	73,7	2,5	G020742	82,4	2,4
G020063	54,1	2,7	G020725	82,4	2,9	G020743	80,9	3,1
G020065	72,2	0,2	G020726	72,2	1,2	G020744	79,0	5,0
G020070	9,3	0,3	G020727	79,3	0,8	G020745	79,7	1,9
G020073	75,5	0,6	G020728	85,3	5,3	G020746	85,5	4,3
G020711	34,7	8,6	G020729	76,9	0,5	G020747	21,9	3,4
G020712	39,9	3,3	G020730	80,6	2,4	G020748	84,2	2,0
G020713	47,2	3,6	G020731	81,4	1,8	G020749	75,7	1,2
G020714	60,7	7,7	G020732	80,7	1,0	G020750	75,2	2,5
G020715	69,0	1,9	G020733	78,7	4,6	G020751	72,0	5,4
G020716	62,2	9,5	G020734	77,3	6,3	G020752	78,4	2,7
G020717	75,9	2,2	G020735	80,6	2,8	G020753	77,3	10,2
G020718	81,3	1,4	G020736	78,5	2,7	G020754	80,7	1,1
G020719	74,3	6,4	G020737	70,4	4,6	G020755	73,6	2,0
G020720	73,0	3,4	G020738	73,7	5,6	G020756	76,5	4,0

Ejemplo 4. Edición in vitro con guías seleccionadas en Hepatocitos Primarios de Ratón (PMH)

[00609] Se realizó una selección de ARNgu modificado para evaluar la eficacia de edición de 95 ARNgu diferentes dirigidos a varios sitios dentro del gen TTR del ratón. Sobre la base de ese estudio, se seleccionaron dos ARNgu (G021320 y G021256) para su evaluación en un ensayo de dosis-respuesta. Estas dos guías de prueba se compararon con una guía TTR SpyCas9 de ratón (G000502) con una secuencia guía de 20 nucleótidos. Los ARNgu de NmeCas9 probados que se dirigen al gen TTR de ratón incluyen una secuencia guía de 24 nucleótidos (representada por N) y un andamio guía de la siguiente manera:

mN*mNNNNNNNNmNNNmNNNNNNNNNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCcmUmGmAmAmAmCmCG UUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG UGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU (SEQ ID NO: 4), donde A, C, G, U y N son adenina, citosina, guanina, uracilo y cualquier ribonucleótido, respectivamente, a menos que se indique lo contrario. Una m es indicativa de una modificación 2'O-metilo y un * es

indicativo de un enlace fosforotioato entre los nucleótidos. Las versiones modificadas y sin modificar de las guías se proporcionan en la Tabla 1-2.

[00610] Los ARNm de Cas9 y guía fueron lipoinfectados, como se describe más adellante, en hepatocitos primarios de ratón (PMH). PMH (In Vitro ADMET Laboratories MCM114) se prepararon como se describe en el Ejemplo 1. Las lipofecciones se realizaron como se describe en el Ejemplo 1 con una dosis respuesta de ARNgu y ARNm. En resumen, las células se incubaron a 37 °C, CO₂ al 5 % durante 24 horas antes del tratamiento con las lipoplejos. Los lipoplejos se incubaron en medio de mantenimiento que contiene suero de bovino fetal al 10 % (FBS) a 37 °C durante 10 minutos. Después de la incubación, los lipoplejos se agregaron a los hepatocitos de ratón en un ensayo de dosis respuesta de 8 puntos en 3 veces con una dosis de partida de ARNm de Cas9 300 ng y ARNgu 50 nM. Las dosis de ARN mensajero aumentan junto con la dosis de ARNg en cada condición, aunque en la Tabla 9 solo se enumera la dosis de ARNg. Las células se lisaron 72 horas después del tratamiento y el análisis NGS se realizó como se describe en el Ejemplo 1.

[00611] La respuesta a la dosis de la eficacia de edición para guiar la concentración se realizó en muestras por triplicado. La Tabla 9 muestra el porcentaje medio de edición y la desviación estándar (SD) en cada concentración guía y un valor de EC₅₀ calculado. La media y la desviación estándar (SD) se ilustran en la Fig. 5.

Tabla 9. Porcentaje medio edición en hepatocitos de ratón primarios

Muestra	EC ₅₀ (nM)	ARNgu (nM)	% medio de edición	SD
ARNm de SpyCas9 + G000502	22,0	50	95,7	0,3
		16,7	40,9	14,8
		5,6	6,4	3,3
		1,9	0,8	0,3
		0,6	0,2	0,08
		0,2	0,1	0
		0,1	0,1	0
		0	0,1	0
Nme2 Cas9 ARNm Q (SEQ ID NO: 635) + G021320	18,7	50	86,5	0,9
		16,7	41,8	2,1
		5,6	5,8	1,4
		1,9	1,2	0,3
		0,6	0,4	0,2
		0,2	0,1	0,1
		0,1	0,1	0
		0	0,1	0
Nme2 Cas9 ARNm Q (SEQ ID NO: 635) + G021256	20,9	50	92,3	0,5
		16,7	35,1	2
		5,6	2,6	0,5
		1,9	0,6	0,4
		0,6	0,1	0
		0,2	0,1	0
		0,1	0,1	0
		0	0,1	0

Ejemplo 5. Edición *in vitro* en hepatocitos primarios de ratón (PMH) con curva de dilución

Ejemplo 5.1. Evaluación de ARNgu modificado mediante series de dilución

[00612] Se diseñaron ARNgu modificados con varias estructuras de andamiajes, todos dirigidos a un sitio publicado previamente en el gen pcsk9 de ratón (ver WO2019094791) como se muestra en las Tablas 1-2 y se probó su eficacia de edición utilizando hepatocitos primarios de ratón (PMH). Las células se prepararon como se describe en el Ejemplo 1 usando células PMH (In Vitro ADMET Laboratories) y se sembraron en placas a una densidad de 20 000 células/pocillo. Las células se transfectaron usando MessengerMax (Invitrogen) de acuerdo con los protocolos del fabricante con 1 ng/μl de ARNm de Nme2 Cas9 (ARNm U) y ARNgu en concentraciones como se indica en la Tabla 10. Se incluyeron muestras duplicadas en el ensayo. Las células se recolectaron 72 horas después de la transfección y se analizaron mediante NGS como se describe en el Ejemplo 1. El porcentaje medio de edición con desviación estándar se muestra en la Tabla 10 y la Fig. 6.

Tabla 10. Porcentaje medio de edición en PMH

Concentración de guía (nM)	G017564		G017565		G017566	
	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD
50,0	25,7	3,2	25,6	4,9	27,7	0,4
25,0	27,8	1,4	20,0	1,7	26,4	4,7
12,5	15,3	1,7	12,9	0,8	18,2	1,7
6,3	10,6	0,6	8,7	0,9	12,6	0,9
3,1	5,3	0,2	3,6	0,3	6,7	0,7
1,6	5,0	1,1	3,6	0,6	4,8	0,2
0,8	1,3	0,5	0,2	0,1	2,8	0,3
0,4	0,8	0,3	0,5	0,1	1,8	0,1
0,2	0,3	0,1	0,2	0,1	0,7	0,1
0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,2	0,1
0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,1

Ejemplo 5.2. Evaluación de modificaciones de cola de poli-A ARNm y relaciones de carga

[00613] Se seleccionó un ARNgu dirigido al gen pcsk9 de ratón de la Tabla 10 para evaluar la eficacia de edición de guías resultante de combinaciones particulares de modificaciones de cola poli-A y proporciones de ARNgu:ARNm. Las células de PMH se prepararon, se trataron y se analizaron como se describe en el ejemplo 1, a menos que se indique lo contrario. Las PMH (Gibco) se sembraron a una densidad de 15 000 células/pocillo.

[00614] Las LNP se prepararon, en general, como se describe en el Ejemplo 1. Las LNP se prepararon con la composición de lípidos de 50/9/38/3, expresada como la relación molar de lípido A ionizable/colesterol/DSPC/PEG, respectivamente. Las LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N:P) de alrededor de 6. Las LNP encapsularon el ARNg G017566 o uno de los tres ARNm que codifican el mismo marco de lectura abierto (ORF) de Nme2Cas9, pero con colas poli-A codificada diferentes, como se indica en la Tabla 11. Un experimento preliminar que mantuvo constante la aplicación de ARNgu y varió la cantidad de ARNm aplicado mostró que la proporción de 1:1 de ARNgu:ARNm en peso resultó en el mayor porcentaje de edición. En el ejemplo actual, se aplicaron dosis crecientes de LNP de ARNm y LNP de ARNg a las células en 100 μl de medio como se describe en la Tabla 11, manteniendo una relación en peso de ARNgu:ARNm de 1:1. La Tabla 11 y la Fig. 7 muestran el porcentaje medio de edición y la desviación estándar (SD).

Tabla 11. Porcentaje medio de edición en PMH

ARN total (ng)	ARNm C SEQ ID NO: 622		ARNm B SEQ ID NO: 621		ARNm D SEQ ID NO: 623	
	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD	% medio de edición	N
333,	49,1	0,9	44,3	0,0	39,6	1
111,	37,5	3,2	43,4	0,2	30,3	1
37,	12,8	0,2	15,6	1,0	9,3	1
12,3	1,3	0,2	2,2	0,0	1,1	1
4,1	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	1
1,4	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	1
0,5	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	1

Ejemplo 5.3. Relación de ARNgu:ARNm en relación con ARNgu o ARNpg utilizando LNP

[00615] Se realizaron estudios para evaluar la eficacia de edición de diseños de ARNgu que contienen enlazadores de polietilenglicol (ARNpg). En el estudio se compararon dos ARNg que tenían como diana la TTR con la misma secuencia guía, uno de los cuales incluía tres conectores de polietilenglicol en la región constante de la guía (ARNpg, G021846) y uno de los cuales no (G021845), como se muestra en la Tabla 12. Las guías y el ARNm se formularon en diferentes LNP y se mezclaron a las proporciones deseadas para la entrega a hepatocitos primarios de ratón (PMH) a través de nanopartículas lipídicas (LNP).

[00616] Las células de PMH se prepararon, se trataron y se analizaron como se describe en el Ejemplo 1, a menos que se indique lo contrario. Las células PMH de los Laboratorios In Vitro ADMET (n.º lote MCM114) fueron sembradas a una densidad de 15 000 células/pocillo. Las células fueron tratadas con LNP como se describe a continuación. Las LNP se prepararon generalmente como se describe en el ejemplo 1. Las LNP fueron preparados con una composición lipídica de 50/9/38/3, expresada como la relación mola de lípido ionizable A/colesterol/DSPC/PEG, respectivamente.. Las LNP fueron formuladas con una relación molar de aminalipídica y ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6. Las LNP encapsularon una sola especie de ARN, ya sea ARNg G021845, ARNg G021846 o ARNm (ARNm M; SEQ ID NO: 631) como se describe en el Ejemplo 1.

[00617] Las células de PMH fueron tratadas con cantidades variables de LNP en relaciones de ARNg a ARNm de 1:4, 1:2, 1:1, 2:1, 4:1 u 8:1 en peso de carga de ARN. Se incluyeron muestras duplicadas en cada ensayo. Se analizaron las guías en una curva de respuesta a la dosis de 8 puntos y 3 veces a partir de una concentración de ARN total de 1 ng/uL, como se muestra en la Tabla 12. En la Tabla 12 se muestran los resultados del porcentaje medio de edición. En la Fig. 8A se muestra la media de porcentaje de edición para ARNgu G021845 y en la Fig. 8B se muestra el porcentaje medio de edición para ARNgu G021846. "ND" en la tabla representa valores que no se pudieron detectar debido a un fallo experimental.

Tabla 12. Porcentaje medio de edición en PMH

Relación de carga (ARNg:ARNm)	Dosis de LNP (ng/uL)	ARNgu (G021845)		ARNpg (G021846)	
		% medio de edición	SD	% medio de edición	SD
1:4	1	88,1	1,7	ND	ND
	0,3	68,7	5,7	78	0,3
	0,1	28,1	4,1	39,8	8,2
	0,03	8,7	2	5,1	0

Relación de carga (ARNg:ARNm)	Dosis de LNP (ng/uL)	ARNgu (G021845)		ARNpg (G021846)	
		% medio de edición	SD	% medio de edición	SD
	0,01	1,5	0,4	4	1,2
	0,004	0,6	0,5	0,2	0
	0,001	0,3	0,2	0,6	0,3
1:2	1	90,6	0	91,2	2,9
	0,3	78	2,4	85,6	1,4
	0,1	41,5	5,8	56,6	4,4
	0,03	23	5,4	17,5	0
	0,01	6,1	4,3	18,6	0,5
	0,004	0,1	0,1	3,4	1,7
	0,001	0,1	0	2,4	0,7
1:1	1	90,9	1,4	94,7	0,6
	0,3	71,8	4,2	84,7	0,9
	0,1	45,7	3,2	64,3	5,3
	0,03	27,4	1	44,8	11,5
	0,01	4,7	2,5	10,2	4,3
	0,004	0,2	0	1,7	0,7
	0,001	0,1	0	0,7	0,5
2:1	1	92,4	1,6	94,5	0,8
	0,3	80	1,3	85,7	0,2
	0,1	45,4	0	68	7,9
	0,03	47,2	3	49,3	0
	0,01	18,1	1,8	28,8	4,1
	0,004	0,8	0,7	3,8	2,4
	0,001	0,2	0,1	0,8	0,3
4:1	1	87,9	1,9	90,1	0
	0,3	80,2	2,2	84	0,1
	0,1	43,4	0	60,4	0,1
	0,03	46,2	0,5	46,1	0
	0,01	11,3	2,3	26,7	4,9
	0,004	0,4	0,2	1,5	0,4
	0,001	0,4	0,1	0,5	0,3
8:1	1	89,2	0	87,5	0
	0,3	76,7	3,9	78,6	3,1
	0,1	59,5	9,4	59,4	1,1
	0,03	36,4	7	45,3	0,5
	0,01	8,2	1,2	18,7	2,9
	0,004	0,6	0,6	2,6	0,3
	0,001	0,1	0	0,6	0,2

Ejemplo 5.4. Edición in vitro de guías pegiladas modificadas (ARNpg) en PMH usando LNP
Se analizó el ARNpg modificado con el mismo sitio objetivo en el gen TTR del ratón para evaluar la eficacia de edición en células de PMH.

[00618] Las células de PMH se prepararon, se trataron y se analizaron como se describe en el Ejemplo 1, a menos que se indique lo contrario. Se usaron células PMH de In Vitro ADMET Laboratories (n.º de lote MC148) y se colocaron en placas en una densidad de 15 000 células/pocillo. Las formulaciones de LNP se prepararon tal como se describe en el Ejemplo 1. Las LNP se prepararon con una composición lipídica de 50/9/38/3, expresada como la relación molar de lípido ionizable A/colesterol/DSPC/PEG, respectivamente.. Las LNP fueron formuladas con una relación molar de amina lipídica a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6 y un ARNg indicado en la Tabla I o un ARNm.

[00619] Las PMH en 100 µl de medio se trataron con LNP para 30 ng de ARNm total (ARNm P) en peso y LNP para ARNg en las cantidades indicadas en la Tabla 13. Las muestras se ejecutaron en duplicado. Los resultados de media de edición para PMH se muestran en la Tabla 13 y en la Figura 9.

Tabla 13. Porcentaje medio de edición en PMH

ID de guía	ARNgu de LNP (ng/uL)	% medio de edición	SD	ID de guía	ARNgu de LNP (ng/uL)	% medio de edición	SD
G021844	0,7	96,6	0,5	G023416	0,7	91,5	1,8
	0,23	95,0	0,5		0,23	84,8	0,1
	0,08	80,0	5,9		0,08	56,4	2,7
	0,03	51,9	1,9		0,03	28,2	3,6
	0,009	13,9	0,4		0,009	10,0	1,7
	0,003	4,6	0,9		0,003	3,2	0,0
	0,001	0,8	0,1		0,001	0,8	0,3
	0,0003	0,2	0,1		0,0003	0,2	0,0
	0,0001	0,1	0,0		0,0001	0,1	0,0
	0,00004	0,2	0,1		0,00004	0,1	0,0
	0,00001	0,1	0,0		0,00001	0,1	0,0
	0	0,1	0,0		0	0,1	0,0
G023413	0,7	96,4	0,4	G023417	0,7	90,5	1,8
	0,23	92,5	0,7		0,23	71,6	0,2
	0,08	73,9	0,9		0,08	30,9	6,7
	0,03	36,4	2,6		0,03	12,8	1,3
	0,009	10,3	1,5		0,009	4,8	1,5
	0,003	2,4	0,7		0,003	0,4	0,4
	0,001	0,6	0,1		0,001	0,2	0,1
	0,0003	0,3	0,0		0,0003	0,1	0,0
	0,0001	0,1	0,0		0,0001	0,1	0,1
	0,00004	0,1	0,0		0,00004	0,1	0,0
	0,00001	0,1	0,0		0,00001	0,1	0,0
	0	0,1	0,0		0	0,1	0,0
G023414	0,7	96,5	0,2	G023418	0,7	96,8	0,3
	0,23	92,7	0,4		0,23	90,8	1,7
	0,08	74,1	2,7		0,08	63,3	1,8
	0,03	45,7	1,5		0,03	27,7	2,4

ID de guía	ARNgu de LNP (ng/uL)	% medio de edición	SD	ID de guía	ARNgu de LNP (ng/uL)	% medio de edición	SD
	0,009	13,7	0,7		0,009	8,8	0,5
	0,003	4,3	1,3		0,003	1,9	0,6
	0,001	0,7	0,1		0,001	0,7	0,2
	0,0003	0,2	0,0		0,0003	0,2	0,1
	0,0001	0,2	0,1		0,0001	0,1	0,0
	0,00004	0,2	0,1		0,00004	0,1	0,0
	0,00001	0,1	0,0		0,00001	0,1	0,0
	0	0,1	0,0		0	0,2	0,1
G023415	0,7	96,5	0,5	G023419	0,7	96,6	0,6
	0,23	92,6	0,7		0,23	93,4	1,3
	0,08	73,1	0,2		0,08	71,1	3,3
	0,03	34,4	0,8		0,03	29,0	4,6
	0,009	14,2	0,2		0,009	9,7	4,1
	0,003	3,9	0,4		0,003	2,3	0,5
	0,001	0,5	0,2		0,001	0,4	0,0
	0,0003	0,2	0,0		0,0003	0,1	0,0
	0,0001	0,2	0,0		0,0001	0,2	0,0
	0,00004	0,1	0,0		0,00004	0,2	0,0
	0,00001	0,1	0,0		0,00001	0,1	0,0
	0	0,1	0,0		0	0,1	0,0

Ejemplo 6. Análisis de modificación química

Ejemplo 6.1. Análisis de modificación química en células HEK-293

[00620] Se determinó la eficacia de edición para el ARNcr modificado químicamente dirigido a dos sitios objetivo de VEGFA diferentes (TS-25, TS-47). Cada ARNgd contenía una combinación de un ARNcr y un ARNtrac con modificaciones químicas. Las modificaciones químicas incluyeron modificaciones de fosforotioato (PS) o 2'-O' metilo (2'-OMe) en las bases en los extremos 5' y 3' tanto del ARNcr como del ARNtracr (EndMod).

[00621] Se prepararon células HEK-Nme2 como se describe en el Ejemplo 2, excepto que en este estudio se usaron células con MOI de 0,8. Las células se colocaron en placas a una densidad de 10 000 células por pocillo. Luego, las células se transfectaron con ARN guía dual mediante el protocolo MessengerMax descrito en el Ejemplo 2.2 a una concentración final de ARNgd 25 nM. Se incluyeron muestras duplicadas en el ensayo. Después de 72 horas, se extrajo el ADN genómico (ADNg) de las células y se preparó para el análisis NGS como se describe en el Ejemplo 1. Los resultados del análisis NGS se evaluaron utilizando el software Graphpad Prism (versión 9). El porcentaje medio de edición se muestra en la Tabla 14 y las Figs. 10A-10B.

Tabla 14. Porcentaje medio de edición con diferentes combinaciones de ARNcr y ARNtracr

ARNtracr ID	Sitio TS-25			Sitio TS-47		
	ID de ARNcr	% medio de edición	SD	ID de ARNcr	% medio de edición	SD
TR018617	CR017872	4,20	2,20	CR018650	3,25	0,25

ARNtracr ID	Sitio TS-25			Sitio TS-47		
	ID de ARNcr	% medio de edición	SD	ID de ARNcr	% medio de edición	SD
TR018618	UnMod	3,05	1,05	UnMod	6,90	1,50
TR018619		0,75	0,25		8,55	2,15
TR018620		0,10	0,00		1,95	0,05
TR018621		0,25	0,05		3,80	1,50
TR018622		0,10	0,00		1,15	0,75
TR018617	CR017873 EndMod	3,80	2,30	CR018651 EndMod	7,70	0,10
TR018618		17,30	5,00		26,70	3,60
TR018619		9,00	2,90		20,85	4,25
TR018620		3,05	0,45		13,15	3,85
TR018621		9,40	2,30		18,35	3,55
TR018622		0,50	0,20		1,20	0,40
TR018617	CR018473 RaMod	4,95	1,75	CR018652 RaMod	9,10	2,90
TR018618		18,85	4,15		27,50	5,40
TR018619		18,00	2,50		28,45	3,05
TR018620		3,15	0,25		8,60	3,60
TR018621		15,15	1,25		19,60	3,00
TR018622		0,30	0,10		1,40	0,10
TR018617	CR018645 RA-maxPS	3,35	1,55	CR018653 RA-maxPS	2,80	0,40
TR018618		15,60	4,80		12,35	0,85
TR018619		12,75	1,95		25,95	1,35
TR018620		2,30	0,50		5,75	1,45
TR018621		9,40	0,00		10,95	2,55
TR018622		0,15	0,05		0,70	0,70
TR018617	CR018646 máxPS	5,20	1,90	CR018654 máxPS	4,30	1,70
TR018618		15,75	3,85		1,70	0,10
TR018619		9,50	0,90		21,30	1,70
TR018620		2,20	0,00		6,60	2,60
TR018621		9,55	1,05		9,15	4,65
TR018622		0,15	0,05		2,55	1,15
TR018617	CR018647 Objetivo- 2'-OMe	4,65	1,75	CR018655 Objetivo- 2'-OMe	5,00	0,80
TR018618		12,15	4,25		26,85	2,25
TR018619		8,05	1,45		26,30	1,00
TR018620		4,00	0,40		9,55	0,95
TR018621		9,70	1,50		15,65	2,85
TR018622		0,10	0,00		1,25	0,25
TR018617	CR018648 Max-2'-OMe	7,00	3,10	CR018656 Max-2'-OMe	10,50	0,50
TR018618		23,40	8,00		21,10	1,90
TR018619		11,70	4,30		25,05	0,65
TR018620		3,30	0,00		13,90	0,90
TR018621		13,30	2,20		23,60	0,70
TR018622		0,20	0,00		1,25	0,45

ARNtracr ID	Sitio TS-25			Sitio TS-47		
	ID de ARNcr	% medio de edición	SD	ID de ARNcr	% medio de edición	SD
TR018617	CR018649 Max-2'-OMe	1,55	0,05	CR018657 Max-2'-OMe	6,55	0,15
TR018618		14,60	4,10		11,65	0,65
TR018619		4,35	1,25		29,05	2,35
TR018620		1,25	0,15		9,40	1,80
TR018621		10,85	3,55		20,45	6,65
TR018622		0,10	0,00		1,70	0,10

[00622] Las combinaciones adicionales de ARNcr y ARNtracr modificados químicamente se testearon para evaluar la eficacia de la edición. La eficacia de edición se determinó para ARNgd modificado químicamente dirigido al sitio TS47 descrito anteriormente dentro del gen VEGFA. Cada ARNgd contenía una combinación de un ARNcr y un ARNtracr con modificaciones químicas. Se obtuvieron y prepararon células HEK-Nme2 como se describe en el Ejemplo 2. Las células (MOI=2) se sembraron en placas a una densidad celular de 10 000 células por pocillo. Luego, las células se transfectaron con ARN guía dual mediante el protocolo MessengerMax descrito en el Ejemplo 2.2 a una concentración final de ARNgd 25 nM. Se incluyeron muestras duplicadas en el ensayo. Después de 72 horas, se extrajo el ADNg de las células, se preparó para el análisis de NGS y los resultados de NGS se analizaron como se describe anteriormente y en el Ejemplo 1. El porcentaje medio de edición se muestra en la Tabla 15 y la Fig. 11.

Tabla 15. Porcentaje medio de edición con ARNcr y ARNtracr modificados

ID de ARNtracr	CR018473		CR018474		CR018475		CR018476	
	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD
TR018477	20,5	0,1	32,8	1,9	14,2	4,1	22,2	2,1
TR018478	5,8	1,3	25,6	4,0	6,1	0,2	14,2	0,3
TR018479	35,7	2,3	37,9	2,7	19,9	1,7	15,4	0,6
TR018480	37,4	0,4	29,7	0,5	20,2	1,3	1,2	0,3
TR018481	24,9	1,0	29,9	0,1	1,9	0,2	23,6	0,7
TR018482	0,3	0,1	0,5	0,1	0,9	0,3	0,8	0,1
TR018483	30,3	1,4	31,8	1,7	16,9	0,4	21,1	3,1
TR018484	16,2	1,8	18,2	1,2	17,9	1,1	23,2	3,0
TR018485	26,1	0,2	6,6	1,3	1,5	0,4	5,9	1,1
TR018486	32,0	4,8	17,9	0,8	2,8	0,1	15,7	0,3
TR018487	8,0	1,6	30,1	1,0	12,2	0,0	21,8	0,7
TR018488	36,2	0,8	25,1	1,2	21,0	1,0	31,0	0,3
TR018489	34,9	0,4	20,1	1,6	19,5	0,5	29,4	1,3
TR018490	21,9	0,3	28,5	0,3	10,2	1,6	13,8	1,4
TR018491	24,7	1,2	28,3	1,4	19,6	1,4	26,1	0,0
TR018492	13,6	1,5	18,3	0,3	12,4	3,0	18,7	1,9
TR018493	19,9	0,8	8,4	2,0	9,6	1,9	22,7	3,2
TR018494	1,1	0,9	0,4	0,2	0,3	0,2	0,3	0,1
TR018495	19,4	1,6	27,8	0,7	1,4	0,7	1,9	0,3

TR018496	38,7	0,9	35,5	1,0	13,3	1,7	32,9	1,7
TR018497	27,5	1,1	16,6	0,5	13,1	0,2	23,0	0,7
TR018498	28,0	1,2	38,1	1,0	18,6	2,9	24,9	1,7
TR018499	33,9	0,1	36,4	0,5	26,6	0,9	37,8	1,2
TR018500	0,7	0,5	0,5	0,2	3,1	0,7	4,7	1,3

Ejemplo 6.2. Evaluación de las modificaciones químicas de la secuencia guía en PMH

[00623] Se evaluó la eficacia de edición del ARN guía pegilado (ARNpg) con modificaciones químicas en la secuencia guía en dos regiones TTR de ratón distintas (Exón 1 y Exón 3) en PMH. Se prepararon PMH (In Vitro ADMET Laboratories) como se describe en el Ejemplo 1. La lipofección de ARNm de Nme2 Cas9 (ARNm O SEQ ID NO: 633) y ARNg dirigidos a dos loci distintos en TTR de ratón como se indica en la Tabla 16 utilizó lípidos premezclados. composiciones como se describe en el Ejemplo 1. Se usaron lipoplejos para tratar células con 100 ng/100 ul de ARNm de Nme2 y con ARNg en las concentraciones indicadas en la Tabla 16. Las células se incubaron en medio de mantenimiento + FBS al 10 % (Corning n.º 35-010-CF) a 37 °C por 72 horas. Después de la incubación, se aisló ADN genómico y se realizó análisis de NGS como se describe en el Ejemplo 1.

[00624] Se determinó la eficacia de edición para diversos patrones de modificación de guías a tres concentraciones de ARNg (3 nM, 8 nM o 25 nM). Se incluyeron muestras duplicadas en el ensayo. Los resultados de la media de edición se muestran en la Tabla 16 y las Fig. 12A-12B para las guías de ensayo con el diseño de ARNpg N79 (G023066 o G023067) que carecen de un 2'-OMe en posiciones nucleotídicas especificadas en la región de unión del ARNg. En la Tabla 17 y las Fig. 12C-12D se muestra una media de porcentaje de edición para guías de ensayo con diseños de ARNpg de fin de moldeo (G023070 o G023104) con modificaciones adicionales de 2'-OMe en la posición de nucleótido especificada en la región de unión del objetivo del ARNg. "ND" en la tabla representa valores que no se pudieron detectar debido a un fallo experimental.

Tabla 16. Porcentaje medio de edición para ARNpg N79 sin modificación con 2'-OMe en la posición especificada en la secuencia guía.

Locus	Modificación de secuencia de guía	Guía	Concentraciones de ARNg					
			3 nM		8 nM		25 nM	
			% medio de edición	SD	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD
Exón-1	ARNpg con mod alta	G023067	ND	ND	61,8	0,3	76,3	4,6
	Sin Mod	G023069	5,1	0,4	13,0	0,2	33,8	0,3
	Modo final	G023070	23,7	3,9	48,1	0,3	61,2	2,0
	POSICIÓN 4	G023078	36,5	4,1	50,7	3,5	69,5	0,1
	POSICIÓN 5	G023079	57,7	0,5	63,2	3,5	71,2	3,0
	POSICIÓN 8	G023080	47,3	4,2	46,1	2,9	78,4	0,2
	POSICIÓN 9	G023081	50,4	2,2	46,8	5,6	57,4	4,1
	POSICIÓN 11	G023082	31,2	2,3	39,3	1,9	50,7	3,6
	POSICIÓN 13	G023083	46,5	3,7	49,2	3,8	46,6	9,2
	POSICIÓN 18	G023084	46,8	1,8	47,7	7	60,7	4,1
	POSICIÓN 22	G023085	9,5	2,6	35,2	5,8	49,6	3,9
Exón-3	ARNpg con mod	G023066	38,8	4,0	79,2	4,2	88,0	1,0

Locus	Modificación de secuencia de guía	Guía	Concentraciones de ARNg					
			3 nM		8 nM		25 nM	
			% medio de edición	SD	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD
	alta							
	Sin Mod	G023103	1,3	0,5	20	0,2	37,3	1,6
	Mod final	G023104	20,3	4,7	50,1	4,9	62,1	5,1
	POSICIÓN 4	G023112	56,7	3,8	64,3	3,2	77,2	2,0
	POSICIÓN 5	G023113	41,0	8,9	68,4	1,3	81,8	1,8
	POSICIÓN 8	G023114	56,3	2,2	76,8	14	87,5	0,5
	POSICIÓN 9	G023115	59,5	9,0	63,6	1,9	80,8	0,9
	POSICIÓN 11	G023116	49,4	10,3	49,5	7,1	67,8	0,2
	POSICIÓN 13	G023117	49,0	9,4	55,1	5,7	70,3	1,2
	POSICIÓN 18	G023118	52,9	7,3	56,6	6,0	74,4	3,4
	POSICIÓN 22	G023119	21,7	4,1	30,5	3,3	40,8	1,2

ND = no se han presentado datos debido a fallos técnicos.

Tabla 17. Porcentaje medio de edición para los ARNpg modificados finales con una modificación adicional 2’-OMe en la posición especificada en la región de unión de los ARNpg.

Locus	Modificación de secuencia de guía	Guía	Concentraciones de ARNg					
			3 nM		8 nM		25 nM	
			% medio de edición	SD	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD
Exón-1	ARNpg con mod alta	G023067	ND	ND	61,8	0,3	76,3	4,6
	Sin Mod	G023069	5,1	0,4	13,0	0,2	33,8	0,3
	Mod final	G023070	23,7	3,9	48,1	0,3	61,2	2,0
	POSICIÓN 4	G023071	22,4	4,0	51,0	5,3	54,2	0,6
	POSICIÓN 5	G023072	18,8	2,1	45,8	5,3	60,5	1,2
	POSICIÓN 8	G023120	65,3	26	41,3	5,0	38,6	7,2
	POSICIÓN 9	G023073	31,1	3,1	47,7	1,0	62,4	6,3
	POSICIÓN 11	G023074	24,0	5,6	52,0	1,7	66,5	1,4
	POSICIÓN 13	G023075	ND	ND	48,2	3,6	62,5	0,8
	POSICIÓN 18	G023076	17,2	1,6	43,1	0,2	48,1	2,8
	POSICIÓN 22	G023077	30,6	2,5	59,1	7,2	ND	ND
Exón-3	ARNpg con mod alta	G023066	38,8	4,0	79,2	4,2	88,0	1,0
	Sin mod	G023103	1,3	0,5	20,0	0,2	37,3	1,6
	Mod final	G023104	20,3	4,7	50,1	4,9	62,1	5,1
	POSICIÓN 4	G023105	7,0	1,4	52,6	6,8	51,6	2,2
	POSICIÓN 5	G023106	22,8	4,2	ND	ND	63,8	3,4
	POSICIÓN 8	G023122	34,6	5,4	53,2	6,5	66,9	1,9

Locus	Modificación de secuencia de guía	Guía	Concentraciones de ARNg					
			3 nM		8 nM		25 nM	
			% medio de edición	SD	% medio de edición	SD	% medio de edición	SD
	POSICIÓN 9	G023107	19,3	5,1	ND	ND	ND	ND
	POSICIÓN 11	G023108	27,1	7,5	49,6	6,8	50,5	0,7
	POSICIÓN 13	G023109	13,6	2,8	41,6	3,4	ND	ND
	POSICIÓN 18	G023110	25,1	8,8	46,2	3,9	54,1	1,1
	POSICIÓN 22	G023111	22,3	6,6	56,8	1,1	61,2	3,9

ND = no se han presentado datos debido a fallos técnicos.

Ejemplo 7. Edición de bases con editor de bases Nme2 y ARNgu modificado químicamente en células HepG2

[00625] Se evaluaron construcciones de editor de bases que comprenden un dominio de desaminasa APOBEC3A fusionado con nicasa Nme2Cas9 D16A para determinar la eficacia de conversión de bases con varios diseños de guía en células HepG2.

[00626] Las células HepG2 sobreexpresan constitutivamente el miembro 1 de la familia de portadores de soluto 10 (SLC10A1) (HepG2-NTCP, Seeger et al. Mol Ther Nucleic Acids. dec 2014; 3(12): e216) se descongelaron y resuspendieron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con suero bovino fetal (FBS) al 10% (Medio Y) seguido de centrifugación. El sobrenadante se descartó y las células se resuspendieron en Medio Y y se sembraron en placas a una densidad de 25 000 células por pocillo en una placa recubierta de colágeno de 96 pocillos (Corning, Cat. 354407) en 100 uL de Medio Y.

[00627] Los ARNm del editor de bases Nme2Cas9 se prepararon mediante transcripción in vitro esencialmente como se describe en el Ejemplo 1 a partir de plásmidos que codifican ARNm R (2XNLS de extremo N, editor de bases 1x de extremo C NLS Nme2), ARNm S (2XNLS de extremo N, ORF del editor de bases NLS Nme2) y ARNm T (ORF del editor base NLS Nme2 de término C 1X). El ARNm de SpyCas9 y el ARNm del inhibidor de la uracilo glicosilasa (UGI) (SEQ ID NO: 625) se transcribieron a partir de plásmidos utilizando el mismo método.

[00628] Los ARNgu de NmeCas9 modificados químicamente dirigidos a NTCP, con diferentes secuencias de PAM (G020927, G020928) o VEGFA (G020073) y el ARNgu de SpyCas9 dirigidos a NTCP (G020929) se sintetizaron utilizando métodos de rutina.

[00629] El ARN guía, el ARNm del editor y el ARNm de UGI se mezclaron en una proporción en peso de 1:1:1 con un reactivo de transfección premezclado que contenía lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG en una proporción molar de 50:38:9:3, respectivamente. Los reactivos se combinaron a una relación molar de amina lipídica con respecto a fosfato de ARN (N:P) de alrededor de 6.0. La mezcla de ARN-lípidos se mezcló aproximadamente 1:1 con medio FBS al 10 % y se incubó durante 10 minutos. Después de la incubación, las células se trataron con la mezcla de ARN y lípidos en una dilución en serie de 8 puntos y 2 veces comenzando con 400 ng de ARN editor total por pocillo.

[00630] A 72 horas luego del tratamiento, las células se lisaron para análisis de NGS como se proporcionó en el Ejemplo 1.

[00631] La respuesta a la dosis de la eficacia de edición para guiar la concentración se realizó en triplicado. Tabla 18 – muestra los porcentajes medios de edición calculados en cada concentración guía y un valor de EC50 calculado. El sitio objetivo en VEGFA es propenso a la formación de indeles debido al alto contenido de GC. Todos los ARNm del editor lograron la misma edición máxima de C a T. Hubo

ligeras diferencias en la EC50 donde el ARNm S superó al ARNm R y al ARNm T.

Tabla 18. Porcentajes medios de edición en células HepG2-NTCP en el locus VEGFA (G020073) y el editor base Nme2.

ARNm	Editor de base de nombre (ng)	% de C con respecto a T				% de C con respecto a A/G			% de indel		
		Media	SD	n	EC50	Media	SD	n	Media	SD	n
ARNm R	0	0,20	0,14	2	6,86	0,80	0,00	2	0,70	0,14	2
	6,25	36,05	1,63	2		2,30	0,28	2	14,25	0,21	2
	12,5	49,70	1,13	2		2,95	0,49	2	16,35	1,06	2
	25	57,60	0,42	2		2,75	0,07	2	17,45	0,21	2
	50	67,15	1,34	2		2,65	0,07	2	17,90	0,14	2
	100	70,50	0,99	2		2,65	0,07	2	18,80	0,28	2
	200	72,75	0,49	2		2,90	0,57	2	18,75	0,49	2
	400	72,00	0,14	2		3,10	0,14	2	20,40	0,99	2
ARNm S	0	0,50	0,00	1	3,86	1,00	0,00	1	0,60	0,00	1
	6,25	49,60	3,25	2		2,10	0,14	2	14,05	0,21	2
	12,5	57,05	0,78	2		2,50	0,42	2	16,50	0,14	2
	25	66,95	0,49	2		2,40	0,00	2	16,25	0,21	2
	50	71,45	0,35	2		2,40	0,00	2	17,25	0,07	2
	100	71,60	0,85	2		2,55	0,35	2	17,90	0,14	2
	200	73,70	0,28	2		2,65	0,07	2	19,00	0,28	2
	400	73,80	0,14	2		3,05	0,35	2	18,70	0,42	2
ARNm T	0	0,55	0,49	2	4,84	1,05	0,21	2	0,55	0,07	2
	6,25	45,55	0,21	2		2,60	0,28	2	17,15	0,64	2
	12,5	56,40	1,84	2		2,80	0,00	2	19,40	0,14	2
	25	64,95	1,06	2		3,15	0,35	2	19,40	1,70	2
	50	70,70	0,28	2		3,25	0,21	2	20,00	0,71	2
	100	72,20	2,83	2		2,75	0,21	2	19,80	1,56	2
	200	70,90	0,99	2		3,15	0,35	2	19,70	0,85	2
	400	71,80	0,14	2		3,45	0,21	2	20,95	0,35	2

Ejemplo 8. Edición de bases con ARNgu modificado químicamente en PMH

5 [00632] Se evaluaron construcciones de editor de bases que comprenden un dominio de desaminasa APOBEC3A fusionado con nicasa Nme2Cas9 para determinar la eficacia de conversión de bases con varios diseños en hepatocitos de ratón primarios (PMH). Se descongelaron PMH (In Vitro ADMET Laboratories, n.º de catálogo MC148) y se sembraron en placas como se describe en el Ejemplo 1. Editor de bases Nme2Cas9, ARNm ARNm R, ARNm S y ARNm T; y se prepararon ARNm del inhibidor de la uracilo glicosilasa (UGI) (SEQ ID NO: 625) como se describe en el Ejemplo 1 y se emparejaron con una serie de ARNgu modificados químicamente dirigidos a TTR de ratón y seleccionados en una dosis única de 128 ng de ARNm del editor de bases. A las 72 horas luego del tratamiento, las células se lisaron para el análisis NGS como se proporcionó en el Ejemplo 1. La edición media de guías representativas (proporción de tipos de edición) se muestra en la Tabla 19.

10

15 **Tabla 19. Porcentajes medios de edición en células PMH utilizando ARNg modificados dirigidos al locus TTR y un editor base Nme2.**

ARNm	Guía	% de C con respecto a T			% de C con respecto a A/G			% de indel		
		Media	SD	N	Media	SD	N	Media	SD	N
ARNm R	G021237	69,00	5,94	2	3,65	1,63	2	9,00	3,39	2
	G021249	47,15	2,33	2	1,20	0,14	2	1,45	1,34	2
	G021321	7,25	0,92	2	0,25	0,21	2	91,25	0,92	2
ARNm S	G021237	76,75	1,34	2	4,35	1,48	2	7,95	1,34	2
	G021249	54,05	4,17	2	1,20	0,28	2	1,60	0,42	2
	G021321	0,50	n/a	1	0,10	n/a	1	99,00	n/a	1
ARNm T	G021237	73,55	5,44	2	5,15	2,47	2	12,50	1,70	2
	G021249	53,30	5,52	2	1,05	0,21	2	2,15	1,63	2
	G021321	7,05	1,20	2	0,55	0,21	2	90,40	2,97	2

n/a = SD no es aplicable cuando solo se informa 1 réplica.

Ejemplo 9. Estudios de ARNm de Nme2

Ejemplo 9.1 – Edición in vitro en hepatocitos primarios

[00633] Se analizaron ARNm mensajeros que codifican ORF de Nme2Cas9 con diferentes ubicaciones del NLS para evaluar la eficacia de la edición en hepatocitos primarios de ratón (PMH).

[00634] Las PMH se prepararon como se describe en el Ejemplo 1. La lipofección se realizó usando el reactivo de transfección Lipofectamine MessengerMAX (Invitrogen LMRNA001) de acuerdo con el protocolo del fabricante para transformar células con ARNgu G020361 100 nM dirigido a PCSK9 de ratón y con ARNm en las concentraciones enumeradas en la Tabla 20. Se incluyeron muestras triplicadas en el ensayo. Después de 72 horas de incubación a 37 °C en medio de mantenimiento, se recolectaron las células y se realizó el análisis NGS como se describe en el Ejemplo 1. Los resultados de edición medios con la desviación estándar (SD) se muestran en la Tabla 20 y la Fig. 13.

Tabla 20. Porcentaje medio de edición en el locus PCSK9 en PMH.

Construir	Concentración de ARNm (ng/uL)	% medio de edición	SD
ARNm H SEQ ID NO: 626	2,00	0,07	0,05
	0,66	0,07	0,05
	0,22	0,03	0,05
	0,07	0,03	0,05
	0,03	0,03	0,05
	0,008	0,00	0,00
	0,003	0,00	0,00
	0,00	0,05	0,05
ARNm I SEQ ID NO: 627	2,00	22,53	1,59
	0,66	10,37	2,25
	0,22	0,80	0,22
	0,07	0,07	0,05
	0,03	0,07	0,05
	0,008	0,03	0,05
	0,003	0,03	0,05
	0,00	0,20	0,28
ARNm J	2,00	26,30	0,86

Construir	Concentración de ARNm (ng/uL)	% medio de edición	SD
SEQ ID NO: 628	0,66	10,07	1,27
	0,22	0,93	0,33
	0,07	0,03	0,05
	0,03	0,03	0,05
	0,008	0,03	0,05
	0,003	0,03	0,05
	0,00	0,05	0,05
ARNm K SEQ ID NO: 629	2,00	14,20	1,84
	0,66	6,70	1,16
	0,22	0,53	0,17
	0,07	0,07	0,09
	0,03	0,03	0,05
	0,008	0,00	0,00
	0,003	0,00	0,00
ARNm L SEQ ID NO: 630	2,00	23,30	0,80
	0,66	10,57	1,54
	0,22	0,70	0,42
	0,7	0,07	0,05
	0,03	0,07	0,05
	0,008	0,07	0,05
	0,003	0,03	0,05
ARNm N SEQ ID NO: 631	2,00	22,63	2,25
	0,66	11,00	0,00
	0,22	0,97	0,19
	0,07	0,17	0,09
	0,03	0,03	0,05
	0,008	0,03	0,05
	0,003	0,00	0,00
ARNm C SEQ ID NO: 632	2,00	19,90	0,16
	0,66	8,40	2,20
	0,22	0,70	0,22
	0,07	0,03	0,05
	0,03	0,00	0,00
	0,008	0,03	0,05
	0,003	0,00	0,00
	0,00	0,00	0,00

Ejemplo 9.2 – Respuesta a la dosis de variantes y guías de ORF de Nme2 con variaciones de modificación química

[00635] Se analizaron diferentes ARNm mensajeros que codifican ORF de Nme2Cas9 con

diferentes configuraciones de NLS para determinar la eficacia de edición en hepatocitos primarios humanos (PHH) y células HEK-293. Los ensayos se realizaron utilizando ARNg con secuencias guía idénticas dirigidas al locus TS47 de VEGFA y los ARNg tenían varias longitudes y patrones de modificación química. Las células PHH se prepararon como se describe en el Ejemplo 1. Las células HEK293 se descongelaron y se sembraron en placas a una densidad de 30.000 células/pocillo en placas de 96 pocillos en DMEM (Corning, 10-013-CV) con FBS al 10 % y se incubaron durante 24 horas. La lipofección se realizó utilizando el reactivo de transfección Lipofectamine MessengerMAX (Invitrogen LMRNA001) según el protocolo del fabricante. Se utilizó una serie de diluciones de respuesta a la dosis 1:3 que comenzó con una dosis máxima de ARNg de 100 nM y ARNm de 1 ng/uL para transformar células con ARNg en las concentraciones enumeradas en las Tablas LS3.1 y LS3.2. Se incluyeron muestras replicadas en el ensayo. Después de 72 horas de incubación a 37 °C, se recolectaron las células y se realizó el análisis NGS como se describe en el Ejemplo 1. Los resultados de edición medios con desviación estándar (SD) se muestran en la Tabla 21A y las Figuras 14A-14C para células HEK y la Tabla 21B y las Figuras 14D-14F para PHH.

Tabla 21A. Porcentaje medio de edición en HEK

ARNm	ARNg [nM]	G020055			G020073		
		Media	SD	N	Media	SD	N
ARNm C	100	76,05	5,18	4	90,50	4,15	4
	33,33	61,68	14,86	4	75,55	8,65	4
	11,11	32,93	8,59	4	63,53	11,92	4
	3,70	14,63	4,08	4	39,88	2,40	4
	1,23	5,95	1,42	4	13,00	5,36	4
	0,41	3,35	0,60	4	6,03	1,05	4
	0,14	2,05	0,50	4	3,65	0,47	4
	0,00	1,50	0,22	4	1,30	0,22	4
ARNm I	100	85,55	7,06	4	88,08	4,90	4
	33,33	65,33	17,06	4	77,13	4,78	4
	11,11	34,98	12,93	4	48,63	4,83	4
	3,70	21,25	13,09	4	22,43	6,49	4
	1,23	8,03	8,06	4	9,80	2,12	4
	0,41	2,83	1,94	4	5,55	0,94	4
	0,14	2,15	0,83	4	2,45	0,60	4
ARNm J	100	87,03	3,79	4	90,93	1,14	4
	33,33	72,25	4,18	4	72,08	3,88	4
	11,11	40,05	5,01	4	42,83	9,02	4
	3,70	11,65	5,34	4	16,63	6,64	4
	1,23	5,78	0,86	4	7,00	1,47	4
	0,41	2,60	0,42	4	4,50	2,76	4
	0,14	1,53	0,50	4	1,78	0,24	4
	0,00	1,33	0,13	4	1,53	0,25	4

Tabla 21B. Porcentaje medio de edición en PHH

ARNm	ARNg [nM]	G020055			G020073		
		Media	SD	N	Media	SD	N
ARNm C	100	27,70	4,29	3	31,43	3,63	3

ARNm	ARNg [nM]	G020055			G020073		
		Media	SD	N	Media	SD	N
	33,33	32,98	5,10	4	31,58	2,49	4
	11,11	25,55	2,53	4	33,58	1,06	4
	3,70	13,80	3,68	4	19,38	3,86	4
	1,23	6,20	0,68	4	12,83	3,60	4
	0,41	2,70	0,81	4	6,35	1,41	4
	0,14	2,25	0,66	4	3,18	1,05	4
	0,00	1,65	0,24	4	1,50	0,18	4
ARNm I	100	25,00	2,73	4	29,88	1,67	4
	33,33	25,73	3,69	4	26,60	4,95	4
	11,11	26,08	3,23	4	22,98	3,09	4
	3,70	14,55	3,74	4	19,03	3,55	4
	1,23	7,65	0,70	4	7,28	3,41	4
	0,41	4,18	0,97	4	4,15	0,62	4
	0,14	2,18	0,15	4	2,83	0,93	4
	0,00	1,40	0,12	4	1,35	0,17	4
ARNm J	100	27,90	1,57	4	36,38	5,06	4
	33,33	26,50	3,59	4	32,95	2,27	4
	11,11	21,23	3,98	4	29,88	3,59	4
	3,70	14,85	2,37	4	14,88	2,81	4
	1,23	6,78	2,29	4	6,43	0,74	4
	0,41	2,73	1,35	4	3,13	0,49	4
	0,14	2,63	1,69	4	2,45	0,73	4
	0,00	1,40	0,12	4	1,50	0,16	4

Ejemplo 9.3 – Respuesta a la dosis de variantes de NLS Nme2 usando LNP en PMH

[00636] Se analizaron ARNm mensajeros que codifican ORF de Nme2Cas9 con diferentes ubicaciones del NLS para evaluar la eficacia de la edición en hepatocitos primarios de ratón (PMH). El ensayo probó guías dirigidas al locus TTR del ratón e incluyó diseños de ARNgu y ARNpg.

5 [00637] Se prepararon PMH como en el Ejemplo 1. Las LNP se prepararon generalmente como se describe en el ejemplo 1 con una sola especie de ARN como carga, como se indica en la Tabla 22. Las LNP se prepararon con una composición lipídica de 50/9/38/3, expresada como la relación molar de lípido A ionizable/colesterol/DSPC/PEG, respectivamente. Las LNP fueron formuladas con una relación molar de amina lipídica a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6.

10 [00638] Las células fueron tratadas con 60 ng/100 µl de LNP que contenía ARNg en peso de ARN y con LNP que contenía ARNm como se indica en la Tabla 22. Las células se incubaron durante 72 horas a 37 °C en medio E de Williams (Gibco, A1217601) con suplementos de mantenimiento y suero fetal bovino al 10 %. Después de 72 horas de incubación a 37 °C, las células fueron cosechadas y la edición fue evaluada por NGS como se describe en el ejemplo 1. En la Tabla 22 y la FIG. 15 se muestran
15 los datos de porcentajes medios de edición.

Tabla 22. Porcentaje medio de edición en el locus TTR de ratón en hepatocitos primarios de ratón.

Muestra	ARNm LNP (ARN ng)	% medio de edición	SD	N
ARNm P (2xNLS) G021536	40,000	92,30	0,85	3
	13,330	82,67	1,61	3
	4,440	62,27	2,96	3
	1,480	32,80	4,54	3
	0,490	11,23	1,37	3
	0,160	3,40	0,71	3
	0,050	0,80	0,22	3
	0,018	0,30	0,08	3
	0,006	0,20	0,08	3
	0,002	0,13	0,05	3
	0,001	0,13	0,05	3
	0,000	0,10	0,00	3
ARNm P (2xNLS) G021844 (ARNpg)	40,000	96,17	0,12	3
	13,330	91,83	0,34	3
	4,440	75,37	6,80	3
	1,480	44,53	13,11	3
	0,490	18,30	5,77	3
	0,160	5,50	1,43	3
	0,050	1,63	0,71	3
	0,018	0,33	0,05	3
	0,006	0,17	0,05	3
	0,002	0,07	0,05	3
	0,001	0,10	0,00	3
	0,000	0,07	0,05	3
ARNm M (1xNLS) G021536	40,000	84,27	1,23	3
	13,330	66,23	5,39	3
	4,440	33,80	5,14	3
	1,480	10,17	5,51	3
	0,490	4,20	0,92	3
	0,160	1,10	0,45	3
	0,050	0,33	0,17	3
	0,018	0,23	0,09	3
	0,006	0,10	0,00	3
	0,002	0,10	0,00	3
	0,001	0,10	0,00	3
	0,000	0,07	0,05	3
ARNm M (1xNLS) G021844 (ARNpg)	40,000	88,83	0,37	3
	13,330	74,37	4,63	3
	4,440	39,00	3,72	3
	1,480	16,40	2,52	3
	0,490	4,03	0,77	3

Muestra	ARNm LNP (ARN ng)	% medio de edición	SD	N
	0,160	1,27	0,05	3
	0,050	0,23	0,05	3
	0,018	0,20	0,08	3
	0,006	0,10	0,00	3
	0,002	0,10	0,00	3
	0,001	0,10	0,00	3
	0,000	0,10	0,00	3

Ejemplo 9.4. Respuesta a la dosis de variantes de NLS Nme2 usando LNP en PMH

[00639] Se analizaron ARNm mensajeros que codifican ORF de Nme2Cas9 con diferentes ubicaciones del NLS para evaluar la eficacia de la edición en hepatocitos primarios de ratón (PMH).

[00640] Se prepararon PMH (Gibco, MC148) como se describe en el Ejemplo 1. Las LNP se prepararon generalmente como se describe en el ejemplo 1 con una sola especie de ARN como carga. Las LNP se prepararon con una composición lipídica de 50/9/38/3, expresada como la relación molar de lípido A ionizable/colesterol/DSPC/PEG, respectivamente. Las LNP fueron formuladas con una relación molar de amina lipídica a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6.

[00641] Se trataron las células con 30 ng en peso de ARN/100 ul de LNP que contiene ARNg G021844 y LNP que contiene ARNm tal como se indica en la Tabla LS4. Las células se incubaron a durante 24 horas en medio E de Williams (Gibco, A1217601) con complementos de mantenimiento y suero fetal bovino al 10 %. Después de 72 horas de incubación, se recolectaron células y se evaluó la edición mediante NGS como se describen en el Ejemplo 1. Se muestran los datos de media de edición porcentual en la Tabla 23 y la Figura 16.

Tabla 23. Porcentaje medio de edición en PMH tratados con LNP.

ARNm	ARNm LNP (ng/uL)	Media	SD	N	EC ₅₀ (ng/uL)
ARNm C	0,30	86,30	4,46	3	0,0082
	0,10	84,17	5,52		
	0,03	75,80	1,91		
	0,01	43,90	14,36		
	0,004	34,03	8,64		
	0,001	15,63	4,35		
	0,0004	6,17	2,41		
	0,0001	3,47	0,62		
	0,00005	2,37	0,34		
	0,00002	3,00	0,64		
	0,00001	2,60	0,57		
	0,00	2,70	0,16		
ARNm J	0,30	91,30	2,92	3	0,0053
	0,10	89,60	4,23		
	0,03	80,93	8,17		
	0,01	62,85	14,35		
	0,004	39,95	5,15		

ARNm	ARNm LNP (ng/uL)	Media	SD	N	EC ₅₀ (ng/uL)
	0,001	16,70	3,79		
	0,0004	7,73	2,98		
	0,0001	4,23	0,95		
	0,00005	2,80	0,70		
	0,00002	3,23	0,54		
	0,00001	2,67	0,48		
	0,00	3,60	0,57		
ARNm Q	0,30	90,67	4,40	3	0,0065
	0,10	86,77	5,43		
	0,03	80,27	6,65		
	0,01	56,90	5,48		
	0,004	35,45	1,35		
	0,001	12,63	3,16		
	0,0004	5,17	0,56		
	0,0001	2,73	0,17		
	0,00005	2,97	0,41		
	0,00002	2,73	0,21		
	0,00001	2,87	0,56		
	0,00	2,43	0,82		
ARNm N	0,30	93,93	2,20	3	00045
	0,10	90,97	1,77		
	0,03	82,80	8,24		
	0,01	68,67	10,18		
	0,004	42,07	2,25		
	0,001	24,13	4,21		
	0,0004	10,60	0,94		
	0,0001	4,67	0,66		
	0,00005	3,30	1,84		
	0,00002	3,37	0,69		
	0,00001	2,53	0,90		
	0,00	2,33	1,48		
ARNm P	0,30	94,47	1,04	3	0,0036
	0,10	95,03	0,96		
	0,03	91,27	2,36		
	0,01	74,77	6,91		
	0,004	50,57	4,89		
	0,001	22,67	0,25		
	0,0004	8,27	0,74		
	0,0001	4,93	0,70		
	0,00005	3,37	0,74		
	0,00002	2,93	0,68		

ARNm	ARNm LNP (ng/uL)	Media	SD	N	EC ₅₀ (ng/uL)
	0,00001	2,87	0,05		
	0,00	2,87	0,45		
ARNm M	0,30	92,00	0,80	3	0,0093
	0,10	91,40	1,90		
	0,03	79,70	0,70		
	0,01	53,10	6,80		
	0,004	22,47	14,28		
	0,001	8,20	4,20		
	0,0004	4,57	1,57		
	0,0001	2,73	0,31		
	0,00005	3,07	0,21		
	0,00002	2,93	0,09		
	0,00001	2,77	0,66		
	0,00	3,47	1,09		
ARNm O	0,30	89,40	7,00	3	0,0042
	0,10	86,83	12,52		
	0,03	78,17	15,41		
	0,01	64,83	12,48		
	0,004	47,33	9,03		
	0,001	20,67	7,12		
	0,0004	8,60	2,95		
	0,0001	2,47	1,33		
	0,00005	4,13	0,37		
	0,00002	2,80	0,62		
	0,00001	11,13	231,		
	0,00	6,13	2,16		

Ejemplo 10 – Expresión de la proteína NmeCas9

Ejemplo 10.1 Expresión de proteínas en hepatocitos humanos primarios

[00642] Para cuantificar la expresión de cada construcción de ARNm, se midieron los niveles de expresión de ARNm y proteínas después de la administración por LNP de ARNm que codifican SpyCas9 o NmeCas9 a hepatocitos humanos primarios.

[00643] Las células PHH se prepararon generalmente como se describió en el Ejemplo 1. Las LNP se prepararon, en general, como se describe en el Ejemplo 1 con una única especie de ARN como carga. Los LNP contenían lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG en una proporción molar de 50:38:9:3, respectivamente. Las LNP fueron formuladas con una relación molar de amina lipídica a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6.

[00644] Las células recibieron una dosis de un LNP que contenía ARNm (solo ARNm), o dos LNP que contenían ARNm o ARNg. Cada LNP se aplicó a las células a razón de 16,7 ng de carga total de ARN/100 µl. Luego del tratamiento con LNP, las células se incubaron durante 24 horas a 37 °C en medio E de Williams (Gibco, A1217601) con complementos de mantenimiento y suero fetal bovino al 10 %. Después de 24 horas de incubación, se recolectaron las células y se cuantificó la expresión mediante el sistema de detección lítica Nano-Glo HiBiT (Promega, N3030) siguiendo las instrucciones del fabricante.

La luminiscencia bruta se normalizó a una curva estándar utilizando la proteína de control HiBiT (Promega, N3010). La expresión de proteínas de diferentes variantes de Cas9, que se muestra en la Tabla 24 y la FIG. 17, se normalizó con respecto a la expresión de SpyCas9 medida en los hepatocitos correspondientes entregados solo con el ARNm de SpyCas9. De acuerdo con los datos mostrados en la Tabla 24, la expresión de proteínas de estas mismas construcciones fue mayor para la construcción NmeCas9 que para la construcción SpyCas9 cuando se detectó mediante transferencia Western con un anticuerpo anti-HiBiT de extractos de células PHH o según se midió mediante detección de HiBiT en PMH. Células PCH, PHH y PRH.

Tabla 24. Expresión media de las variantes de Cas9 en comparación con la expresión de SpyCas9 en los hepatocitos correspondientes administrados solo con el ARNm de SpyCas9, medido mediante el ensayo HiBiT

ARNm	ARNg	Tipo de célula	Expresión de múltiplo	
			Media	N
ARNm de SpyCas9	Ninguno	PMH	1	2
		PRH	1	3
		PCH	1	3
		PHH	1	3
	G000502	PMH	0,8	2
		PRH	2,7	3
		PCH	1,8	3
		PHH	0,6	3
ARNm M de Nme2 Cas9	Ninguno	PMH	6,8	2
		PRH	19,2	3
		PCH	7,3	3
		PHH	4,3	3
	G021536	PMH	5,1	2
		PRH	11,5	3
		PCH	4,1	3
		PHH	3,0	3

Ejemplo 10.2: Expresión de proteínas en linfocitos T

[00645] Para cuantificar la expresión de cada construcción de ARNm, se midieron los niveles de expresión de proteína luego de la administración en LNP de ARNm que codifican SpyCas9 o Nme2Cas9 a linfocitos T.

[00646] La aféresis de donante humano sano se obtuvo comercialmente (Hemacare, Cat n.º). Se aislaron linfocitos T de dos donantes (W106 y W864) mediante selección negativa utilizando el kit de aislamiento de linfocitos T humanos EasySep (Stem Cell Technology, Cat. 17951) en el instrumento MultiMACS Cell24 Separator Plus según las instrucciones del fabricante. Los linfocitos T aislados se criopreservaron en medio de congelación CS10 (Cryostor, Cat., 07930) para uso futuro.

[00647] Tras la descongelación, los linfocitos T se cultivaron en medio de crecimiento de linfocitos T completo compuesto de medio base CTS OpTmizer (medio CTS OpTmizer (Gibco, A1048501) con GlutaMAX 1X, amortiguador HEPES 10 mM, penicilina/estreptomicina al 1%) suplementado con citocinas (IL2 200 U/ mL, IL7 5 ng/mL y IL15 5 ng/mL) y suero humano al 2,5% (Gemini, 100-512). Después de descansar durante la noche a 37 °C, los linfocitos T a una densidad de 1e6/mL se activaron con el reactivo TransAct de linfocitos T (dilución 1:100, Miltenyi) y se incubaron en una incubadora de cultivo de tejidos durante 48 horas.

[00648] Los linfocitos T activadas se trataron con LNP que administraban ARNm que codificaban ARNm de Nme2 o ARNm de Spy con etiquetas HiBiT. Los LNP se prepararon generalmente como en el Ejemplo 1. Los LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N:P) de alrededor de 6. Los LNP que encapsulaban los ARNm de Nme2Cas9 usaron lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG en una relación molar de 50:38:9:3 respectivamente. El LNP que encapsula el ARNm de SpyCas9 utilizó lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG en una proporción molar de 50:10:38,5:1,5, respectivamente. En este experimento no se proporcionó ARN guía.

[00649] Inmediatamente antes del tratamiento de linfocitos T con LNP, las LNP se preincubaron a 37 °C durante 5 minutos a una concentración de LNP de 13,33 ug/mL de ARN total con 10 ug/mL de ApoE3 (Peprotech, Cat n.º 350-02) en medio completo de linfocitos T suplementado. con citoquinas (IL2 200 UI/mL (Peprotech, Cat. 200-02), IL7 5 ng/mL (Peprotech, Cat. 200-07) y IL15 5 ng/mL (Peprotech, Cat. 200-15) y 2,5 % de suero humano (Géminis, 100-512). Después de la incubación, las LNP se mezclaron 1:1 en volumen con linfocitos T en el medio completo de linfocitos T con citocinas utilizadas para la incubación de ApoE. Los linfocitos T se recolectaron para el análisis de la expresión de proteínas a las 24 h, 48 h y 72 h después del tratamiento con LNP. Los linfocitos T se lisaron mediante el ensayo lítico Nano-Glo® HiBiT (Promega) y los niveles de proteína Cas9 se cuantificaron mediante el sistema de detección extracelular Nano-Glo® Nano-Glo HiBiT (Promega, Cat. N2420) siguiendo las instrucciones del fabricante. La luminiscencia se midió utilizando el lector de placas Biotek Neo2. La regresión lineal se trazó en GraphPad utilizando el número de proteínas y las lecturas de luminiscencia de los controles estándar, lo que obligó a la línea a pasar por X = 0, Y = 0. Se utilizó la ecuación Y = ax + 0 para calcular el número de proteínas por lisado.

[00650] Las muestras se normalizaron a la media de SpyCas9 a una dosis de LNP de 0,83 ug/mL. Las Tablas 25A-25B y las Figs. 18A-18F muestran la expresión relativa de la proteína Cas9 en células activadas cuando se utiliza ARNm a las 24, 48 y 72 horas después del tratamiento con LNP en el Donante 1 o el Donante 2. Cas9 se expresó de una manera dependiente de la dosis en linfocitos T activadas. La expresión de proteínas fue mayor en las muestras de Nme2Cas9 en comparación con la muestra de SpyCas9 en linfocitos T activadas.

Tabla 25A. Expresión de proteínas normalizada a la muestra media de SpyCas9 0,83 ug/mL para el donante 1

Punto de tiempo (horas)	LNP (ug/mL)	Donante de linfocitos T 1					
		ARNm P		ARNm M		Spy cas9	
		Media	N	Media	N	Media	N
24 horas	6,67	89,3	2	86,5	2	26,5	2
	3,33	67,7	2	50,3	2	11,3	2
	1,67	32,4	2	13,5	2	4,4	2
	0,83	7,3	2	2,9	2	1,0	2
	0,42	1,6	2	0,8	2	0,2	2
	0,21	0,4	2	0,3	2	0,1	2
	0,10	0,2	2	0,1	2	0,0	2
	0,00	0,0	2	0,0	2	0,0	2
48 horas	6,67	657,2	2	987,0	2	165,9	2
	3,33	487,4	2	551,0	2	58,5	2
	1,67	271,0	2	165,1	2	21,4	2
	0,83	64,5	2	32,3	2	4,3	2

Punto de tiempo (horas)	LNP (ug/mL)	Donante de linfocitos T 1					
		ARNm P		ARNm M		Spy cas9	
		Media	N	Media	N	Media	N
	0,42	11,8	2	7,8	2	1,0	2
	0,21	3,2	2	2,6	2	0,1	2
0,10	1,1	2	0,7	2	0,1	2	
0,00	0,0	2	0,0	2	0,0	2	
72 horas	6,67	53,8	2	125,6	2	24,6	2
	3,33	40,8	2	75,6	2	11,6	2
	1,67	23,1	2	25,0	2	3,5	2
	0,83	5,6	2	4,0	2	1,0	2
	0,42	1,0	2	1,3	2	0,2	2
	0,21	0,2	2	0,4	2	0,0	2
	0,10	0,2	2	0,0	2	0,1	2
	0,00	0,0	2	0,0	2	0,0	2

Tabla 25B. Expresión de proteínas normalizada a la muestra media de SpyCas9 0,83 ug/mL para el donante 2

Punto de tiempo (horas)	LNP (ug/mL)	Donante 2 de linfocitos T					
		ARNm P		ARNm M		SpyCas9	
		Media	SD	Media	SD	Media	SD
24 h	6,67	151,5	2	134,0	2	36,2	2
	3,33	98,2	2	64,5	2	17,2	2
	1,67	37,6	2	19,4	2	4,9	2
	0,83	10,4	2	4,5	2	1,0	2
	0,42	2,4	2	1,0	2	0,2	2
	0,21	0,7	2	0,4	2	0,1	2
	0,10	0,3	2	0,2	2	0,0	2
	0,00	0,0	2	0,0	2	0,0	2
48 h	6,67	713,6	2	1067,3	2	119,0	2
	3,33	507,5	2	587,1	2	54,9	2
	1,67	229,0	2	149,2	2	15,9	2
	0,83	59,1	2	33,8	2	3,6	2
	0,42	10,5	2	8,3	2	1,0	2
	0,21	3,1	2	2,8	2	0,3	2
	0,10	1,0	2	1,9	2	0,2	2
	0,00	0,0	2	0,2	2	0,0	2
72 h	6,67	53,8	2	108,2	2	17,1	2
	3,33	40,7	2	60,5	2	8,3	2
	1,67	19,3	2	18,2	2	3,1	2
	0,83	4,7	2	3,8	2	1,0	2
	0,42	1,3	2	1,4	2	0,3	2
	0,21	0,4	2	0,4	2	0,1	2
	0,10	0,3	2	0,0	2	0,4	2

Punto de tiempo (horas)	LNP (ug/mL)	Donante 2 de linfocitos T					
		ARNm P		ARNm M		SpyCas9	
		Media	SD	Media	SD	Media	SD
	0,00	0,0	2	0,1	2	0,0	2

Ejemplo 11. Edición *in vivo* en hígado de ratón mediante nanopartículas lipídicas (LNP)

[00651] Las LNP utilizadas en todos los estudios *in vivo* se formularon como se describe en el Ejemplo 1. Las desviaciones del protocolo se indican en el ejemplo correspondiente. La solución de transporte y almacenamiento (TSS) utilizada en la preparación de la LNP se dosificó en el experimento como un control negativo solo para el vehículo.

Edición *in vivo* en el modelo del ratón

[00652] Se evaluaron diseños de guías seleccionados para mejorar la eficacia de la edición *in vivo*. En cada estudio con ratones se utilizaron ratones hembra CD-1 de 6 a 10 semanas de edad. Los animales se pesaron antes de la dosis. Las LNP se formularon generalmente como se describe en el Ejemplo 1. Las LNP contenían lípido A ionizable, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG en una relación molar de 50:38:9:3, respectivamente. Los ensamblajes de ácido nucleico lipídico fueron formulados con una relación molar de amina lipídica a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6.

[00653] Las LNP se administraron a través de la vena lateral de la cola en un volumen de 0,2 mL por animal (alrededor de 10 mL por kilogramo de peso corporal). El peso corporal se midió veinticuatro horas después de la administración. Alrededor de 6-7 días después de la entrega de LNP, los animales fueron sacrificados mediante desangrado bajo anestesia con isoflurano después de la dosis. La sangre fue recolectada por punción cardíaca en tubos separadores de suero. En los estudios de edición *in vivo* se recogió tejido hepático del lóbulo medial izquierdo de cada animal para su extracción y análisis.

[00654] Para los estudios *in vivo*, se extrajo ADN genómico del tejido con el uso de un kit de extracción a base de cuentas, por ejemplo, el kit Zymo Quick- DNA 96 (Zymo Research, Cat. n.º D3010) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Se llevó a cabo el análisis de NGS como se describe en el Ejemplo 1.

Análisis ELISA de transtirretina (TTR) utilizado en estudios con animales

[00655] Se recolectó sangre y se aisló el suero como se describió anteriormente. Los niveles séricos totales de TTR se determinaron utilizando un kit ELISA de prealbúmina de ratón (transtirretina) (Aviva Systems Biology, Cat. OKIA00111). Los reactivos y estándares del kit se prepararon de acuerdo con el protocolo del fabricante. El suero de ratón se diluyó hasta una dilución final de 10 000 veces con 1 diluyente de ensayo. Se añadieron a cada pocillo de la placa ELISA prerrecubierta con anticuerpo de captura diluciones de la curva estándar (100 µL cada una) y muestras de suero diluido. La placa se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos antes del lavado. Se añadió un conjugado de enzima y anticuerpo (100 µl por pocillo) para una incubación de 20 minutos. Se retiró el conjugado de anticuerpo libre y se lavó de nuevo la placa antes de añadir la solución de sustrato cromogénico. La placa se incubó durante 10 minutos antes de añadir 100 µl de la solución de parada, por ejemplo, ácido sulfúrico (aproximadamente 0,3 M). La placa se leyó en un lector de placas Clariostar a una absorbancia de 450 nm. Los niveles séricos de TTR fueron calculados por el software SoftMax Pro ver. 6.4.2 o software Mars ver. 3.31 utilizando una curva logística de cuatro parámetros que se ajuste a la curva estándar. Los valores séricos finales se ajustaron para la dilución del ensayo. Se determinaron los valores de porcentaje de inactivación de proteínas (%KD) en relación con los controles, que generalmente eran animales tratados con el vehículo (TSS) a menos que se indique lo contrario. El porcentaje de TSS se calculó dividiendo el valor de TTR de cada muestra por el valor promedio del grupo de TSS y luego se ajustó a un valor porcentual.

Ejemplo 11.1. Edición in vivo utilizando LNP coformulados

[00656] La eficacia de edición de los ARN_g modificados evaluados en el Ejemplo D.2 se evaluó adicionalmente en un modelo de ratón. Se evaluaron diseños de ARN guía con secuencias guía idénticas dirigidas a PCSK9 de ratón, pero con regiones conservadas de diferentes longitudes. Los LNP se prepararon como se describe en el Ejemplo 1. Los LNP se prepararon utilizando lípido A ionizable, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG en una relación molar 50:38:9:3, respectivamente. Los LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N:P) de alrededor de 6. Se coformularon un ARN_g dirigido al gen PCSK9, como se indica en la Tabla 26, y el ARN_m C en 1:2 de ARN_g a ARN_m mediante peso en LNP. Las LNP se administraron a ratones hembra CD-1 (n=5) a una dosis de 1 mg/kg de ARN total como se ha descrito anteriormente. Los ratones fueron sacrificados 7 días después de la dosificación. La eficacia de edición para las LNP que contienen los ARN_g indicados se muestran en la Tabla 26 y se ilustran en la FIG. 19.

Tabla 26. Porcentaje medio de edición en hígado de ratón

Guía	Dosis (mg/kg)	% medio edición	SD
vehículo	-	0,0	0,0
G017564	1	2,5	0,9
G017565	1	2,2	1,0
G017566	1	2,2	1,2

Ejemplo 11.2. Edición in vivo usando LNP de ARN_m y ARN_{pg}

[00657] Se evaluó *in vivo* la eficacia de edición de los ARN_{pg} modificados. Cuatro nucleótidos en cada uno de los bucles de la región de repetición/antirrepetición, la horquilla 1 y la horquilla 2 fueron sustituidos por los enlazadores de polietilenglicol Spacer-18, además de las modificaciones de guía especificadas en el estudio anterior en el Ejemplo 11.1.

[00658] Las LNP se prepararon generalmente como se describió en el Ejemplo 1 con una única especie de ARN como carga. Los LNP contenían lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG en una proporción molar de 50:38:9:3, respectivamente. Las LNP fueron formuladas con una relación molar de amina lipídica a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6.

[00659] Se administraron LNP que contenían ARN_g dirigido al gen de TTR indicadas en la Tabla 27 a ratones hembra CD-1 (n=5) en una dosis de 0,1 mg/kg o 0,3 mg/kg de ARN total tal como se describió anteriormente. La LNP que contenía ARN_m (ARN_m M; SEQ ID NO: 631) y la LNP que contenía ARN_{pg} (G021846 o G021844) se administraron simultáneamente en una proporción de 1:2 en peso de ARN, respectivamente. Los ratones fueron sacrificados 7 días después de la dosis.

[00660] La eficacia de la edición, la reducción de la TTR sérica y el porcentaje de TSS para las LNP que contienen los ARN_{pg} indicados se muestran en la Tabla 27 y se ilustran en las Fig. 20A-20C, respectivamente.

Tabla 27. Edición hepática, proteína TTR sérica e inactivación de la proteína TTR

Guía	Dosis (mg/kg)	% medio de edición	SD	Media de TTR en suero (ug/mL)	SD	Media %TSS	SD
TSS	NA	0,1	0	733,1	131,2	100	17,9
G021846	0,1	21,9	2,8	369,5	56,2	50,4	7,7
	0,3	33,8	2,9	269,8	21,3	36,8	2,6
G021844	0,1	59,6	3,9	84,1	26,6	11,5	3,6

	0,3	71,6	1,8	24,4	9,2	3,3	1,2
--	-----	------	-----	------	-----	-----	-----

[00661] Se evaluó un ARNpg (G021844) del estudio descrito anteriormente en ratones con ARNm alternativos en diferentes niveles de dosis. Las LNP se prepararon generalmente como se describió en el Ejemplo 1 con una única especie de ARN como carga. Las LNP que contenían ARNpg (G21844) o ARNm (ARNm P o ARNm M) se formularon como se describe en el Ejemplo 1. Las LNP utilizadas se prepararon con lípido A ionizable, DSPC y PEG2k-DMG en una relación molar de 50:38:9:3, respectivamente. Las LNP fueron formuladas con una relación molar de amina lipídica a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6. Tanto G000502 como G021844 tienen como diana el exón 3 del gen TTR del ratón. Se administraron dosis de la LNP que contenía ARNpg y la LNP que contenía ARNm simultáneamente en base al peso combinado de ARN en una proporción de 2:1 guía:ARNm en peso de ARN, respectivamente. Se coformuló una LNP adicional con G000502 y ARNm de SpyCas9 en una proporción de 1:2 en peso, respectivamente, una relación preferida entre la guía y el ARNm de SpyCas9. [00662] Las LNP como se indica en la Tabla 28 se administraron a ratones hembra CD-1 (n=4) a una dosis de 0,1 mg/kg o 0,03 mg/kg de ARN total. La eficacia de edición para las LNP que contienen los ARNg indicados se muestran en la Tabla 28 y se ilustran en las FIG. 20D-20E

Tabla 28. Edición hepática e inactivación de la proteína TTR en suero

Guía	ARNm	Dosis (mg/kg)	% medio de edición	SD	Media de TTR en suero (ug/mL)	SD
TSS	TSS	NA	0,12	0,04	937,4	100,5
G000502	SpyCas9	0,1	44,50	6,9	370,7	80,1
G021844	ARNm P	0,03	37,70	2,9	398,7	41,9
	SEQ ID NO: 634	0,1	65,40	2,2	92,8	27,5
	ARNm M	0,03	32,02	2,1	527,4	93,6
	SEQ ID NO: 631	0,1	62,50	17,4	268,6	236,8

Ejemplo 11.3. Edición in vivo usando LNP de ARNgu y ARNm

[00663] Las LNP se prepararon generalmente como se describió en el Ejemplo 1 con una única especie de ARN como carga. Las LNP utilizadas fueron preparadas con lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG en una relación molar de 50:38:9:3, respectivamente. Los LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N:P) de alrededor de 6. Los ARNgu se diseñaron para apuntar al gen pcsk9 (G020361) o al gen Rosa26 (G020848). [00664] Las LNP que contenían los ARNgu o ARNm se administraron a ratones hembra CD-1 (n=5) a una dosis de 1 mg/kg de ARN total. Las ARNm probados (ARNm C (SEQ ID NO: 622), ARNm J (SEQ ID NO: 628), ARNm Q (SEQ ID NO: 635), ARNm N (SEQ ID NO: 632) se diseñaron con números y disposiciones variables. de NLS. Las LNP se dosificaron simultáneamente en función del peso combinado de la carga de ARN en una proporción de 1:1 de ARNg:ARNm por peso de ARN. El porcentaje medio de edición se muestra en la Tabla 29 y se ilustra en la Fig. 21.

Tabla 29. Porcentaje medio de edición en hígado de ratón

Guía	ARNm	Dosis (mg/kg)	% medio de indel	SD
TSS	TSS	NA	0,1	0,0
G020361	ARNm C	1	3,7	1,5

	ARNm J	1	2,1	0,8
	ARNm Q	1	4,5	1,8
	ARNm N	1	3,6	1,0
	ARNm C	1	0,8	0,3
G020848	ARNm J	1	0,4	0,1
	ARNm Q	1	0,7	0,2
	ARNm N	1	0,9	0,5

Ejemplo 12. Edición in vivo con NmeCas9 y ARNgu o ARNpg

[00665] La eficacia de edición de los ARNpg modificados probados con Nme2Cas9 fue evaluada en un modelo de ratón. Todos los ARNgu de Nme evaluados comprendieron la misma secuencia guía de 24 nt dirigida a la mTTR.

5 [00666] Las LNP se prepararon generalmente como se describió en el Ejemplo 1 con una única especie de ARN como carga. Las LNP utilizadas fueron preparadas con lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG en una relación molar de 50:38:9:3, respectivamente. Las LNP fueron formuladas con una relación molar de amina lipídica a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6. Las LNP fueron mezcladas en una relación de 2:1 en peso de ARNg a carga de ARNm. La dosis se calcula en base al peso combinado
10 del peso de ARN de ARNg y ARNm. La solución de transporte y almacenamiento (TSS) utilizada en la preparación de la LNP se dosificó en el experimento como un control negativo solo para el vehículo.

[00667] Se utilizaron ratones hembra CD-1 de 6 a 10 semanas de edad en cada estudio en ratones (n = 5 por grupo, excepto control de TSS n = 4). Las formulaciones se administraron por vía intravenosa mediante inyección en la vena de la cola de acuerdo con las dosis mencionadas en la Tabla
15 30. Los animales fueron observados periódicamente para detectar efectos adversos durante al menos 24 horas después de la administración de la dosis. Seis días después del tratamiento, los animales fueron sacrificados por punción cardíaca bajo anestesia con isoflurano y se recogió tejido hepático para su análisis posterior. Se colectaron muestras por punción hepáticas con un peso de entre 5 y 15 mg para el aislamiento del ADN genómico y el ARN total. Las muestras de ADN genómico se analizaron con
20 secuenciación NGS, tal como se describe en el ejemplo 1. La eficacia de edición para las LNP que contienen los ARNm y ARNg indicados se muestra en la Tabla 30 y se ilustra en la FIG. 22.

Tabla 30. Porcentaje de edición en hígado de ratón

ARNm	ARNg	Dosis (mg/kg)	% medio de edición	SD	N
TSS	TSS	-	0,08	0,05	4
ARNm P (2x extremo N NLS, HiBit)	G021536 (101-nt Nme ARNgu)	0,03	21,68	6,87	5
		0,1	63,22	3,28	5
ARNm P (2x extremo N NLS, HiBit)	G021844 (ARNpg de Nme 93-nt)	0,03	36,28	9,45	5
		0,1	66,44	3,55	5
ARNm O (2 x NLS a N plazo)	G021844 (ARNpg de Nme 93-nt)	0,03	40,88	14,16	5
		0,1	66,02	5,01	5

Ejemplo 13. Edición de bases in vivo con ARNg Nme2Cas9

[00668] La eficacia de edición de los ARNg modificados con diferentes ARNm fueron evaluados
25 con la construcción del editor de bases Nme en el modelo de ratón. Este experimento se realizó en paralelo al Ejemplo 12 y usó las mismas muestras de control. Las LNP se prepararon generalmente como se describió en el Ejemplo 1 con una única especie de ARN como carga. Las LNP utilizadas fueron

preparadas con lípido A, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG en una relación molar de 50:38:9:3, respectivamente. Las LNP fueron formuladas con una relación molar de amina lipídica a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6. Las LNP utilizadas fueron formuladas como se describe en el Ejemplo 1, excepto que cada componente, ARN guía o ARNm fue formulado individualmente en una LNP, y la LNP se mezcló antes de la administración como se describe en la Tabla 31. Para las muestras de editores de base Nme2Cas9 y Nme2Cas9, se mezclaron LNP en una proporción de 2:1 en peso de ARNg a carga de ARNm del editor. En el caso de muestras de editores de base SpyCas9, se mezclaron LNP en una relación de 1:2 en peso de ARNg con carga de ARNm de editor. La dosis, como se indica en la Tabla 31 y la FIG. 14, se calcula con base en el peso combinado de ARN de ARNg y ARNm del editor. Las muestras del editor de base se trataron con 0,03 mpk adicionales de ARNm de UGI. La solución de transporte y almacenamiento (TSS) utilizada en la preparación de la LNP se dosificó en el experimento como un control negativo solo para el vehículo.

[00669] Se utilizaron ratones hembra CD-1 de 6 a 10 semanas de edad en cada estudio en ratones (n = 5 por grupo, excepto control de TSS n = 4). Las formulaciones se administraron por vía intravenosa mediante inyección en la vena de la cola de acuerdo con las dosis mencionadas en la Tabla 31. Los animales fueron observados periódicamente para detectar efectos adversos durante al menos 24 horas después de la administración de la dosis. Seis días después del tratamiento, se sometió a los animales a eutanasia mediante punción cardíaca con isoflurano como anestesia y se recogió tejido hepático para su análisis posterior. Se colectaron muestras por punción hepáticas con un peso de entre 5 y 15 mg para el aislamiento del ADN genómico y el ARN total. El ADN genómico se extrajo utilizando un kit de aislamiento de ADN (ZymoResearch, D3010) y las muestras se analizaron con secuenciamiento NGS como se describe en el Ejemplo 1. La eficacia de edición para las LNP que contienen los ARNg indicados se muestra en la Tabla 31 y se ilustra en la FIG. 23.

Tabla 31. Porcentaje medio de edición en hígado de ratón

Muestra	Dosis (mg/kg)	% de C con respecto a T			% de C con respecto a A/G			% de indel		
		Media	SD	n	Media	SD	n	Media	SD	n
TSS	0	0,00	0,00	4	0,10	0,00	4	0,08	0,05	4
ARNm O + G021844 (Nme2Cas9 + ARNpg)	0,03	0,00	0,00	5	0,08	0,04	5	40,88	14,16	5
	0,1	0,00	0,00	5	0,02	0,04	5	66,02	5,01	5
ARNm S + ARNm G + G021844 (Editor de base Nme2 + UGI + ARNpg)	0,03	25,60	5,28	5	3,50	0,76	5	11,14	2,18	5
	0,1	46,34	1,53	5	5,74	0,33	5	13,52	0,90	5
ARNm E + ARNm G + G000502 (SpyBC22n + UGI + ARNgu)	0,03	9,28	2,82	5	0,94	0,54	5	7,34	1,61	5
	0,1	30,72	8,51	5	2,86	0,23	5	15,60	2,58	5

Ejemplo 14. Curva de respuesta a la dosis para ARNg de NmeCas9 en PMH con Nme2Cas9

[00670] La eficacia de edición de los ARNg modificados se evaluó con una construcción de Nme2Cas9 en hepatocitos de ratón primarios (PMH). Todos los ARNgu de Nme evaluados comprendieron la misma secuencia guía de 24 nucleótidos dirigida al gen TTR de ratón (mTTR).

[00671] Las PMH (Gibco, Lote MC931) descongelados y resuspendidos en medio de descongelación de hepatocitos con suplementos de recubrimiento (medio E de William (Gibco, Cat. A12176-01)) con dexametasona + suplemento de cóctel (Gibco, Cat. A15563, Lote 2019842) y

suplementos de revestimiento con contenido FBS (Gibco, Cat. A13450, lote 1970698) seguido de centrifugación. El sobrenadante fue desechado y las células granuladas resuspendidas en medio de cultivo hepatocitario más suplemento (Invitrogen, Cat. A1217601 y Gibco, Cat. CM3000). Las células se contaron y se sembraron en placas de 96 pocillos recubiertas con Bio-coat colágeno I (ThermoFisher, Cat. 877272) a una concentración de 15 000 células/pocillos. Se permitió que las células colocadas en placas se asentaran y se adhirieran durante 4-6 horas en una incubadora de cultivo tisular a 37 °C y atmósfera de CO2 al 5 %. Después de la incubación, las células se analizaron en busca de formación de monocapas y se lavaron una vez con medio de mantenimiento de hepatocitos (Invitrogen, Cat. A1217601 y Gibco, Cat. CM4000).

[00672] Las LNP se prepararon generalmente como se describió en el Ejemplo 1 con una carga de 1:2 en peso de ARNg con respecto a ARNm O. Las LNP utilizadas fueron preparadas con una proporción molar de 50 % de lípido A, 38 % de colesterol, 9 % de DSPC y 3 % de PEG2k-DMG. Los LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N:P) de 6. Cada LNP se aplicó a las células utilizando una dilución en serie de 8 puntos y 4 veces comenzando con 300 ng de ARN total por pocillo de 100 µl (concentración de alrededor de 32,25 de ARNg nM por pocillo) como se muestra en la Tabla 32. Luego del tratamiento con LNP, las células se incubaron a 37 °C durante 24 horas en medio E de Williams (Gibco, A1217601) con complementos de mantenimiento y suero fetal bovino al 3 %. Las muestras se ejecutaron en triplicado. Después de 72 horas, las células se recolectaron y analizaron mediante NGS como se describe en el Ejemplo 1.

[00673] La eficacia de edición para LNP que contienen el ARNg indicados, y el EC50 correspondiente para cada uno, se muestra en la Tabla 32 y se ilustra en la FIG. 26.

Tabla 32. Porcentaje medio de edición en el locus TTR de ratón en hepatocitos primarios de ratón.

Guía	% indeles	ARN ng								EC50 (ARN ng)
		300	75	18,75	4,68	1,17	0,29	0,07	0	
G021536	Media	97,7	96,4	90,9	43,1	13,9	1,3	0,3	0,0	5,23
	SD	0,5	0,3	5,0	10,1	6,5	0,7	0,1	0,0	
G021844	Media	96,7	96,9	93,8	60,6	27,2	4,0	0,5	0,3	2,86
	SD	0,8	0,3	1,9	7,5	13,4	2,7	0,3	0,1	
G027492	Media	97,1	96,5	95,2	64,3	30,2	6,2	0,5	0,0	2,49
	SD	1,4	0,4	1,6	13,4	15,9	3,5	0,4	0,1	
G027493	Media	96,5	94,9	82,7	32,4	8,6	0,9	0,0	0,0	6,95
	SD	0,1	0,6	6,4	6,2	5,5	0,8	0,1	0,0	
G027494	Media	96,0	91,7	78,3	19,6	6,7	0,7	0,0	0,0	9,06
	SD	1,0	2,2	8,9	7,6	4,0	0,4	0,1	0,0	
G027495	Media	96,0	94,6	83,8	22,0	11,6	1,8	0,2	0,1	8,31
	SD	0,5	1,8	6,8	9,5	7,3	1,8	0,1	0,1	
G027496	Media	96,2	93,2	77,8	13,2	5,4	0,4	0,1	0,0	10,22
	SD	0,7	2,9	8,4	3,4	2,7	0,4	0,1	0,0	

Ejemplo 15. Edición de bases in vivo con ARNg NmeCas9

[00674] La eficacia de edición de los ARNg modificados fueron evaluados con una construcción de Nme2Cas9 en ratones. Todos los ARNgu de Nme evaluados comprendieron la misma secuencia guía de 24 nucleótidos dirigida al gen TTR de ratón (mTTR).

[00675] Las LNP se prepararon generalmente como se describió en el Ejemplo 1 con una carga

de 1:2 en peso de ARNg con respecto a ARNm O. Las LNP utilizadas fueron preparadas con una proporción molar de 50 % de lípido A, 38 % de colesterol, 9 % de DSPC y 3 % de PEG2k-DMG. Los LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N:P) de alrededor de 6. La dosis se calculó en función del peso combinado de ARN de ARNg y ARNm. La solución de transporte y almacenamiento (TSS) utilizada en la preparación de LNP se dosificó en el experimento como control negativo de solo vehículo.

[00676] En cada estudio con ratones se utilizaron ratones hembra CD-1, de 6-8 semanas de edad (n = 5 para todos los grupos). Los animales fueron alimentados con comida regular con un mantenimiento estándar. Los animales se pesaron antes de la administración de la dosis. Las formulaciones de TSS y LNP se administraron por vía intravenosa mediante inyección en la vena de la cola con una dosis de 0,03 mpk. Los animales fueron observados periódicamente para detectar efectos adversos durante al menos 24 horas después de la administración de la dosis. Siete días luego del tratamiento, los animales fueron sometidos a eutanasia mediante exaguinación cardiaca bajo anestesia con isoflurano; la sangre para la preparación de suero y tejido hepático se recolectaron para análisis posterior.

[00677] Los niveles de TTR en suero que se muestran en la Tabla 33 y la Fig. 27 se produjeron usando ELISA de TTR en suero – ELISA de prealbúmina (Aviva Systems; cn.º at OKIA00111) de acuerdo con el protocolo del fabricante. El nivel de TTR sérica es significativamente menor en todos los grupos experimentales en comparación con el control negativo (TSS).

Tabla 33. Niveles séricos de TTR (ug/mL).

ID de guía	TTR en suero (ug/mL)	SD	% de TSS
TSS	704,9	98,3	100 %
G021844	150,0	84,9	21 %
G021536	371,1	95,6	53 %
G027492	239,4	30,5	34 %
G027493	423,4	170,0	60 %
G027494	496,3	89,8	70 %
G027495	263,6	68,9	37 %
G027496	362,4	52,7	51 %

[00678] Se colectaron muestras mediante biopsia hepática por punción con un peso de entre 5 y 15 mg para el aislamiento del ADN genómico. El ADN genómico se extrajo utilizando un kit de aislamiento de ADN (ZymoResearch, D3012) y las muestras se analizaron con secuenciación NGS (n=5 para todos los grupos), como se describe en el Ejemplo 1. La eficacia de edición de las LNP que contienen los ARNg indicados se muestra en la Tabla 34 y se ilustra en la FIG. 28.

Tabla 34. Porcentaje medio de indeles en el locus TTR en muestras de hígado de ratón

Guía	Media	SD
TSS	0,12	0,22
G021844	57,1	5,7
G021536	31,5	4,9
G027492	51,3	10,4
G027493	27,0	14,0
G027494	17,6	8,6
G027495	43,2	7,2

Guía	Media	SD
G027496	23,5	8,6

Ejemplo 16. Edición de bases in vivo con ARNg de NmeCas9

[00679] La eficacia de edición de los ARNg modificados fueron evaluados con ARNm de Nme2Cas9 en ratones. Todos los ARNgu de Nme evaluados comprendieron la misma secuencia guía de 24 nt dirigida a la mTTR.

5 [00680] Las LNP se prepararon generalmente como se describió en el Ejemplo 1 con una carga de 1:2 en peso de ARNg con respecto a ARNm O. Las LNP utilizadas fueron preparadas con una proporción molar de 50 % de lípido A, 38 % de colesterol, 9 % de DSPC y 3 % de PEG2k-DMG. Los LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N:P) de alrededor de 6. La dosis se calculó en función del peso combinado de ARNg y ARNm. La solución de transporte y almacenamiento (TSS) utilizada en la preparación de LNP se dosificó en el experimento como control negativo de solo vehículo.

[00681] En cada estudio con ratones se utilizaron ratones hembra CD-1, de 6 semanas de edad (n = 5 para todos los grupos). Los animales se pesaron antes de la administración de la dosis para calcularla y 24 horas después de la administración para su seguimiento. Las formulaciones de TSS y LNP se administraron por vía intravenosa mediante inyección en la vena de la cola con una dosis de 0,01 mpk o 0,03 mpk. Los animales fueron observados periódicamente para detectar efectos adversos durante al menos 24 horas después de la administración de la dosis. Siete días después del tratamiento, los animales fueron sacrificados mediante desangrado cardíaco bajo anestesia con isoflurano. Se recogió sangre mediante punción cardíaca para ELISA TTR en suero y se recogió tejido hepático para análisis posteriores.

[00682] Los resultados de TTR en suero preparados usando ELISA de TTR en suero – ELISA de prealbúmina (Aviva Systems; cat n.º OKIA00111) de acuerdo con el protocolo del fabricante se muestran en la Fig. 29 y la Tabla 35.

Tabla 35. Mediciones de TTR sérica después del tratamiento.

ID de guía	Dosificación (mpk)	TTR en suero (ug/mL)	SD	N
Vehículo		663,5	61,5	5
G021844	0,01	585,5	166,1	5
	0,03	205,8	99,2	5
G021536	0,01	749,2	425,3	5
	0,03	252,6	50,2	4
G027492	0,01	527,4	163,1	4
	0,03	266,0	92,4	5
G027495	0,01	626,9	157,7	5
	0,03	310,0	118,1	5

25 [00683] Se recolectaron punciones de biopsia hepática con un peso de alrededor de 5 mg-15 mg para aislar el ADN genómico y el ARN total. El ADN genómico se extrajo utilizando un kit de aislamiento de ADN (ZymoResearch, D3012) y las muestras se analizaron con secuenciación NGS (n=5 para todos los grupos), como se describe en el Ejemplo 1. La eficacia de edición de las LNP que contienen los ARNg indicados se muestra en la Tabla 36 y se ilustra en la FIG. 30.

30 Tabla 36. Porcentaje medio de indeles en el locus TTR en muestras de hígado de ratón

ID de guía	Dosificación	Media	SD	N
vehículo	0,00	0,1	0,07	5
G021844	0,01	19,7	2,9	5
	0,03	49,6	7,9	5
G021536	0,01	10,7	4,7	5
	0,03	34,4	4,1	4
G027492	0,01	21,1	9,2	4
	0,03	44,6	9,4	5
G027495	0,01	9,3	2,6	4
	0,03	30,2	10,9	5

Ejemplo 17. Análisis guía con ARNm de Nme1Cas9 y Nme3Cas9 en linfocitos T

[00684] La eficacia de edición de un andamiaje de ARNg modificado se probó en linfocitos T con ARNm de Nme1Cas9 o Nme3Cas9 utilizando guías con 9 secuencias objetivo distintas en el locus TRAC.

5 [00685] La aféresis de un donante humano sano se obtuvo comercialmente (Hemacare, Donor 3786), y las células se lavaron y resuspendieron en amortiguador CliniMACS® PBS/EDTA (Miltenyi Biotec Cat. 130-070-525) y se procesaron en un dispositivo MultiMACS™ Cell 24 Separator Plus (Miltenyi Biotec). Los linfocitos T se aislaron mediante selección positiva utilizando un kit MicroBead CD4/CD8 Straight from Leukopak®, humano (Miltenyi Biotec Cat. 130-122-352). Los linfocitos T se dividieron en alícuotas y se criopreservaron para su uso en Cryostor® CS10 (StemCell Technologies Cat. 07930). Tras la descongelación, los linfocitos T se colocaron en placas a una densidad de 1,0 x 10⁶ células/mL en medio de crecimiento de linfocitos T (TCGM) compuesto por CTS OpTmizer T Cell Expansion SFM y Complemento de Expansión de Linfocitos T (Thermo Fisher Cat. A1048501), suero AB humano al 5 % (GeminiBio, Cat. 100-512), 1X penicilina-estreptomicina, 1X Glutamax, HEPES 10 mM, interleucina-2 humana recombinante 200 U/mL (Peprotech, Cat. 200-02), 5 ng/mL humana recombinante interleucina-7 (Peprotech, Cat. 200-07) e interleucina-15 humana recombinante 5 ng/mL (Peprotech, Cat. 200-15). Los linfocitos T se dejaron reposar en este medio durante 24 horas, momento en el cual se activaron con T Cell TransAct™, reactivo humano (Miltenyi, Cat. 130-111-160) añadido en una proporción de 1:100 en volumen.

20 [00686] Para la selección de la guía Nme1Cas9, se prepararon soluciones que contenían ARNm que codifica Nme1Cas9 (ARNm AB) en amortiguador P3. Los ARN guía dirigidos a diversos sitios en el locus TRAC se desnaturalizaron durante 2 minutos a 95 °C y se incubaron a temperatura ambiente durante 5 minutos. Cuarenta y ocho horas después de la activación, los linfocitos T se recogieron, se centrifugaron y se resuspendieron a una concentración de 12,5 x 10⁶ células/mL en amortiguador de electroporación P3 (Lonza). Para cada pocillo que se iba a electroporar, se mezclaron 1 x 10⁵ células con 600 ng de ARNm de Nme1Cas9 y 5 µM de ARNg en un volumen final de 20 µL de amortiguador de electroporación P3. Esta mezcla se transfirió por duplicado a placas Nucleofector™ de 96 pocillos y se sometió a electroporación utilizando el código de pulso del fabricante. Los linfocitos T electroporadas se dejaron reposar inmediatamente en medio de crecimiento de linfocitos T CTS OpTmizer sin citocinas durante 15 minutos antes de transferirlas a nuevas placas de 96 pocillos de fondo plano que contenían un medio de crecimiento de linfocitos T CTS OpTmizer adicional suplementado con citocinas. Las placas resultantes se incubaron a 37 °C durante 3 días. El día 3 después de la electroporación, las células se dividieron 1:2 en 2 placas con fondo en U.

[00687] El día 7 después de la electroporación, los linfocitos T colocados en placas se analizaron mediante citometría de flujo para determinar la expresión superficial del receptor de linfocitos T.

Brevemente, se incubaron linfocitos T con anticuerpos contra CD3 (BioLegend, Cat. n.º 317336), CD4 (BioLegend, Cat. n.º 317434), CD8 (BioLegend, Cat. n.º 301046) y Viakrome (Beckman Coulter, Cat. nº C36628). Posteriormente, las células se lavaron, se resuspendieron en amortiguador de tinción celular y se procesaron en un citómetro de flujo Cytoflex (Beckman Coulter). Los datos de citometría de flujo se analizaron utilizando el paquete de software FlowJo. Los linfocitos T se seleccionaron según el tamaño, la forma, la viabilidad y la expresión de CD8 y CD3. Las muestras se ejecutaron en duplicado.

[00688] El CD3 es un componente de la superficie celular del complejo receptor de linfocitos T y su presencia en la superficie celular se utiliza como marcador sustituto para la expresión de la proteína TRAC. La población de células CD3 negativas y la desviación estándar (SD) correspondiente para cada uno de los ARNg indicados se muestran en la Tabla 37 y se ilustran en la Fig. 31.

Tabla 37. Porcentaje medio de linfocitos T CD3 negativos seguidos de edición TRAC con Nme1Cas9

ID de guía	Media	SD
G024103	0,95	0,02
G024104	1,52	0,04
G024108	52,82	0,40
G024109	1,69	0,14
G024110	2,24	0,39
G024111	2,10	0,06
G024112	1,81	0,14
G024113	1,19	0,26
G024114	0,97	0,05

[00689] Para la detección de guías con ARNm de Nme3Cas9, se prepararon linfocitos T como se describe en este ejemplo. Se prepararon soluciones que contenían ARNm que codifica Nme3Cas9 (ARNm Z) en amortiguador P3, así como controles de Nme1Cas9 (ARNm AB) y Nme2Cas9 (ARNm O). La electroporación de un ARNg y ARNm de NmeCas9 (por ejemplo, Nme1Cas9, Nme2Cas9 o Nme3Cas9) se realizó como se describió anteriormente. Las muestras se sometieron a electroporación en triplicado. El día 3 después de la electroporación, las células se analizaron mediante citometría de flujo como se describe anteriormente.

[00690] La población de células CD3 negativas y la desviación estándar (DE) correspondiente para cada uno de los ARNg indicados se muestran en la Tabla 38 y se ilustran en la Fig. 32.

Tabla 38. Porcentaje medio de linfocitos T CD3 negativos seguidos de edición TRAC con Nme3Cas9

ID de guía	Media	SD
G028844	2,99	0,49
G028845	2,97	0,30
G028846	22,83	1,65
G028847	8,71	1,16
G028848	95,6	0,74
G028849	6,24	0,02
G028850	69,63	3,57
G028851	1,49	0,53
G028852	79,13	3,34
G028853 (Control Nme1)	97,43	0,20

ID de guía	Media	SD
G021469 (Control Nme2)	92,46	2,00

Ejemplo 18. Expresión de ARNm de NmeCas9 optimizados con codones

[00691] Para cuantificar la expresión de cada construcción de ARNm, se midieron los niveles de expresión de proteínas después de la electroporación de ARNm que codifican Nme1Cas9, Nme2Cas9 o Nme3Cas9 en linfocitos T. Todas las construcciones de ARNm de NmeCas9 tienen la misma estructura general con secuencias codificantes de señal de localización nuclear de SV40 y nucleoplasmina de extremo N con respecto al marco de lectura abierto de NmeCas9. Las construcciones incluyen una secuencia de codificación para una etiqueta HiBiT de extremo C al marco de lectura abierto NmeCas9. Los componentes están unidos mediante enlazadores y las secuencias específicas se proporcionan en el presente documento.

[00692] La aféresis de un donante humano sano se obtuvo comercialmente (Hemacare, Donor 3786), y las células se lavaron y resuspendieron en amortiguador CliniMACS® PBS/EDTA (Miltenyi Biotec Cat. 130-070-525) y se procesaron en un dispositivo MultiMACS™ Cell 24 Separator Plus (Miltenyi Biotec). Los linfocitos T se aislaron mediante selección positiva utilizando un kit MicroBead CD4/CD8 Straight from Leukopak®, humano (Miltenyi Biotec Cat. 130-122-352). Los linfocitos T se dividieron en alícuotas y se criopreservaron para su uso posterior en Cryostor® CS10 (StemCell Technologies Cat. 07930). Tras la descongelación, los linfocitos T se sembraron en placas a una densidad de 1.0 x 10⁶ linfocitos /mL en medio de crecimiento de linfocitos T (TCGM) compuesto por CTS OpTmizer T Cell Expansion SFM y T Cell Expansion Suplemento (Thermo Fisher Cat. A1048501), suero AB humano al 5 % (GeminiBio, Cat. 100-512), 1X penicilina-estreptomicina, 1X Glutamax, HEPES 10 mM, interleucina-2 humana recombinante 200 U/mL (Peprotech, Cat. 200-02), 5 ng/mL humana recombinante interleucina-7 (Peprotech, Cat. 200-07) e interleucina-15 humana recombinante 5 ng/mL (Peprotech, Cat. 200-15). Los linfocitos T se dejaron reposar en este medio durante 24 horas, momento en el cual se activaron con T Cell TransAct™, reactivo humano (Miltenyi, Cat. 130-111-160) añadido en una proporción de 1:100 en volumen.

[00693] Se prepararon soluciones que contenían ARNm que codifica NmeCas9 en amortiguador P3. Los ARN guía dirigidos al locus TRAC se retiraron del almacenamiento y se desnaturalizaron durante 2 minutos a 95 °C y se incubaron a temperatura ambiente durante 5 minutos. Cuarenta y ocho horas después de la activación, los linfocitos T se recogieron, se centrifugaron y se resuspendieron a una concentración de 12,5 x 10⁶ células/mL en amortiguador de electroporación P3 (Lonza). Cada pocillo que se iba a electroporar contenía 1 x 10⁵ células, ARNm de NmeCas9 como se especifica en la Tabla 39 y ARNg de 1 µM (G028853 para Nme1Cas9; G021469 para Nme2Cas9; G028848 para Nme3Cas9) como se especifica en la Tabla 39 en un volumen final de 20 µL de amortiguador de electroporación P3. El ARNm de NmeCas9 se probó utilizando una dilución en serie de cinco puntos al triple comenzando con 600 ng de ARNm. La mezcla adecuada de ARNg y ARNm se transfirió en tres veces a placas Nucleofector™ de 96 pocillos y se sometió a electroporación con el uso del código de pulso del fabricante. Los linfocitos T electroporadas se dejaron reposar inmediatamente en medio de crecimiento de linfocitos T CTS OpTmizer sin citocinas durante 15 minutos antes de transferirlas a nuevas placas de 96 pocillos de fondo plano que contenían un medio de crecimiento de linfocitos T CTS OpTmizer adicional suplementado con citocinas. Las placas resultantes se incubaron a 37 °C durante 24 horas antes del ensayo de luminiscencia HiBiT o 96 horas antes de la citometría de flujo.

[00694] Los linfocitos T se recolectaron para el análisis de la expresión de proteínas 24 h después de la electroporación. Los linfocitos T se lisaron mediante el ensayo lítico Nano-Glo® HiBiT (Promega) La luminiscencia se midió utilizando el lector de placas Biotek Neo2. La Tabla 39 y la Fig. 33 muestran

la expresión de la proteína Cas9 y la correspondiente desviación estándar (SD) en células activadas como unidades relativas de luminiscencia (RLU).

Tabla 39. Luminiscencia media (RLU) como medida relativa de la expresión de la proteína Cas9 en linfocitos T a las 24 horas.

	ARNm (ng)	600	200	66,6	22,2	7,4
ARNm X (Nme1Cas9) G028853	Media (RLU)	6955,7	2941,0	1893,7	758,3	288,7
	SD	800,5	232,0	268,3	256,0	21,4
ARNm Y (Nme1Cas9) G028853	Media (RLU)	10999,7	4967,6	2888,7	1423,0	479,3
	SD	1621,8	444,6	451,5	213,3	42,0
ARNm V (Nme2Cas9) G021469	Media (RLU)	43026,7	15244,0	6522,3	2658,3	1067,3
	SD	7729,3	1288,1	229,0	174,3	127,1
ARNm Z (Nme3Cas9) G028848	Media (RLU)	19217,3	6488,0	2386,0	1033,3	414,7
	SD	1311,8	521,0	394,3	93,6	50,2

5 [00695] El día 4, después de la edición, los linfocitos T se analizaron mediante citometría de flujo para determinar la expresión de proteínas de superficie. Brevemente, los linfocitos T se incubaron durante 30 minutos a 4 °C con una mezcla de anticuerpos diluidos en amortiguador de tinción celular (BioLegend, Cat. n.º 420201). Los anticuerpos contra CD3 (BioLegend, Cat. n.º 317336), CD4 (BioLegend, Cat. No. 317434), CD8 (BioLegend, Cat. n.º 301046) y Viakrome (Beckman Coulter, Cat. n.º 10 C36628) se diluyeron a 1:100. Posteriormente, las células se lavaron, se resuspendieron en 100 µL de amortiguador de tinción celular y se procesaron en un citómetro de flujo Cytoflex (Beckman Coulter). Los datos de citometría de flujo se analizaron utilizando el paquete de software FlowJo. Los linfocitos T se clasificaron según su tamaño, forma, viabilidad, CD8 y CD3. Las muestras se ejecutaron en triplicado. La población de células CD3 negativas y la desviación estándar (DE) correspondiente para cada uno de 15 los ARNg indicados se muestran en la Tabla 40 y se ilustran en la Fig. 34.

Tabla 40. Porcentaje de linfocitos CD3 negativos de los linfocitos T después de la edición de TRAC.

	ARNm (ng)	600	200	66,7	22,2	7,4
ARNm X (Nme1Cas9) G028853	Media	95,2	94,6	90,3	79,9	58,7
	SD	0,8	1,1	0,6	3,1	4,8
ARNm Y (Nme1Cas9) G028853	Media	97,2	96,2	93,7	88,7	75,0
	SD	0,8	1,1	0,9	1,4	1,3
ARNm V (Nme2Cas9) G021469	Media	87,7	84,6	80,3	66,6	42,7
	SD	3,3	3,9	2,4	1,6	0,1
ARNm Z (Nme3Cas9) G028848	Media	96,6	93,4	85,5	73,6	36,0
	SD	0,1	1,1	2,3	5,8	2,0

Ejemplo 19. Edición in vitro con guías seleccionadas en hepatocitos primarios de mono Cynomolgus (PCH)

[00696] Se seleccionaron tres ARNgu de NmeCas9 (G024739, G024741 y G024743) para su evaluación en un ensayo de dosis-respuesta. Los ARNgu de NmeCas9 probados que se dirigen al gen TTR de cynomolgus incluyen una secuencia guía de 24 nucleótidos.

[00697] Las versiones modificadas y sin modificar de las guías se proporcionan en la Tabla 41.

5 **Tabla 41. Versiones modificadas y sin modificar de ARNg seleccionados.**

ID de guía	Secuencia sin modificar	Secuencia modificada
G024739	AGGACCAGCCUCAGACACA AAUACGUUGUAGCUCCCUG AAACCGUUGCUACAAUAAG GCCGUCGAAAGAUGUGCCG CAACGCUCUGCCUUCUGGC AUCGUU (SEQ ID NO: 947)	mA*mG*mG*mAmCCAmGmCCmUCmAG ACAmCAAAmUACmGUUGmUmAmGmC UCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGm CUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmG mAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmC GCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG *mU*mU (SEQ ID NO: 928)
G024741	CUGCCUCGGACGGCAUCUA GAACUGUUGUAGCUCCCUG AAACCGUUGCUACAAUAAG GCCGUCGAAAGAUGUGCCG CAACGCUCUGCCUUCUGGC AUCGUU (SEQ ID NO: 948)	mC*mU*mG*mCmCUCmGmGAmCGmGC AUCmUAGAmACUmGUUGmUmAmGmC UCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGm CUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmG mAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmC GCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG *mU*mU (SEQ ID NO: 929)
G024743	AGGCAGAGGAGGAGCAGAC GAUGAGUUGUAGCUCCCUG AAACCGUUGCUACAAUAAG GCCGUCGAAAGAUGUGCCG CAACGCUCUGCCUUCUGGC AUCGUU (SEQ ID NO: 949)	mA*mG*mG*mCmAGAmGmGAmGGmAG CAGmACGAmUGAmGUUGmUmAmGmC UCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGm CUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmG mAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmC GCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG *mU*mU (SEQ ID NO: 930)

[00698] Los ARNg y el ARNm de Cas9 se lipofectaron, como se describe a continuación, en hepatocitos primarios de cynomolgus (PCH). Se prepararon PCH (In Vitro ADMET Laboratories 10136011) como se describe en el Ejemplo 1. PCH se colocaron en placas a una densidad de 40.000 células/pocillo. Las formulaciones de LNP se prepararon tal como se describe en el Ejemplo 1. Las LNP se prepararon con la composición lipídica en una relación molar de 50 % de lípido A, 38 % de colesterol, 9 % de DSPC y 3 % de PEG2k-DMG. Las LNP fueron formuladas con una relación molar de amina lipídica a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6 y un ARNg como se indica en la Tabla 41. La PCH en medio de 100 uL se trató con una serie de diluciones de 8 puntos y 4 veces de LNP que contenía ARNgu, comenzando con 70 ng, y una dosis fija de 30 ng de LNP que encapsulaba ARNm O por peso de ARNm. La concentración de ARNgu en cada pocillo se indica en la Tabla 42. Las células se lisaron 72 horas después del tratamiento y se realizó el análisis NGS como se describe en el Ejemplo 1. La respuesta a la dosis de la eficacia de edición para guiar la concentración se midió en muestras por triplicado. La Tabla 42 y la Fig. 35 muestran el porcentaje medio de edición y la desviación estándar (DE) en cada concentración guía.

20 **Tabla 42. Indeles porcentuales medios en TTR después de la edición en PCH.**

LNP guía (ng/uL)	G024739		G024741		G024743	
	Media	SD	Media	SD	Media	SD
0,7	79,0	1,7	63,5	3,7	42,6	1,1
0,2	56,8	2,4	17,4	1,2	25,4	2,3
0,04	27,2	3,6	2,3	0,5	9,8	0,5
0,01	9,5	1,8	0,6	0,1	3,6	0,5
0,003	3,5	0,9	0,3	0,1	0,7	0,3
0,0007	0,9	0,3	0,1	1,3	0,3	0,1
0,0002	0,4	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
0,00004	0,2	0,0	0,1	1,3	0,0	0,0

Ejemplo 20. Edición in vitro de LNP utilizando series de dilución de ARNm en PCH

[00699] Se analizaron ARNgu modificados que tenían el mismo sitio de direccionamiento en el gen TTR de cynomolgus para evaluar la eficacia de edición en PCH de diferentes ARNm (ARNm O, ARNm AA) y proporciones de formulación. Se prepararon, trataron y analizaron PCH (In Vitro ADMET Laboratories, 10136011) como se describe en este ejemplo como en el Ejemplo 1, a menos que se indique lo contrario. Se utilizaron PCH y se colocaron en placas a una densidad de 50 000 células/pocillo. Las formulaciones de LNP se prepararon tal como se describe en el Ejemplo 1. Las LNP se prepararon con una composición lipídica que tiene una relación molar de 50 % de lípido A, 38 % de colesterol, 9 % de DSPC y 3 % de PEG2k-DMG. Las LNP fueron formuladas con una relación molar de amina lipídica a ARN fosfato (N:P) de alrededor de 6 y un ARNg como se indica en la Tabla 43. Se trató PCH en 100 uL de medio con una dilución en serie triple de 8 puntos de LNP mixto en 3 veces (formulado por separado) o coformulado con diversas proporciones de ARNg:ARNm. La dosis máxima fue de 3 ng/uL de ARN total en peso y las proporciones de ARNg:ARNm para la serie de diluciones fueron las indicadas en la Tabla 43. Las muestras se ejecutaron en triplicado. El porcentaje medio de edición, la desviación estándar (SD) y la EC50 calculada se muestran en la Tabla 43 y en la Fig. 36.

Tabla 43. Indeles porcentuales medios en locus de TTR después de la edición en PCH.

		Dosis de LNP (ng/uL)								EC50 (ng/uL)
		3	1	0,33	0,11	0,04	0,01	0,004	0,001	
G024739: ARNm O LNP mixto 2:1	% medio de edición	64	64,3	45,7	25,6	6,5	1,6	0,2	0,1	0,17
	SD	6,9	12,8	5,1	8,5	2,0	0,9	0,0	1,3	
G024739: ARNm AA LNP mixto 2:1	% medio de edición	58,2	69,2	46,5	29,3	7,4	0,6	0,1	0,0	0,13
	SD	4,5	12,2	13,8	7,6	3,3	0,3	0,0	0,0	
G024739: ARNm AA LNP mezclados 1:2	% medio de edición	56,5	67,1	53,4	25,4	5,8	0,7	0,1	0,0	0,13
	SD	4,7	10,9	16,0	11,7	2,4	0,5	0,0	0,0	
G024739: ARNm O Coformulado 2:1	% medio de edición	61,3	59,2	47,0	27,2	7,2	0,4	0,1	0,1	0,14

		Dosis de LNP (ng/uL)								EC50 (ng/uL)
		3	1	0,33	0,11	0,04	0,01	0,004	0,001	
	SD	4,4	9,3	13,2	8,4	2,2	0,2	0,0	0,0	
G024739:ARNm AA Coformulado 2:1	% medio de edición	58,2	69,6	56,4	35,3	7,2	1,2	0,2	0,1	0,10
	SD	3,0	14,4	11,4	11,4	3,3	0,4	0,1	1,3	
G024739:ARNm AA Coformulado 1:2	% medio de edición	47,0	62,8	56,1	38	12,3	1,3	0,1	0,1	0,07
	SD	5,8	10,5	15,3	13,9	4,3	0,1	0,0	1,3	

Ejemplo 21. Edición de bases in vivo con ARNg de Nm2Cas9

[00700] La eficacia de edición de los ARNg modificados se evaluaron con una construcción de Nme2Cas9 en ratones. Todos los ARNgu evaluados comprendieron la misma secuencia guía de 24 nucleótidos que se dirigen al gen TTR de ratón (mTTR).

5 [00701] Las LNP se prepararon en general como se describe en el Ejemplo 1 con una carga de 1:2 en peso de ARNg con respecto a ARNm O. Las LNP utilizadas fueron preparadas con una proporción molar de 50 % de lípido A, 38 % de colesterol, 9 % de DSPC y 3 % de PEG2k-DMG. Los LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N:P) de alrededor de 6. La dosis se calculó en función del peso combinado de ARNg y ARNm. La solución de transporte y
10 almacenamiento (TSS) utilizada en la preparación de LNP se dosificó en el experimento como control negativo de solo vehículo.

[00702] En cada estudio que implicó el uso de ratones, se utilizaron ratones hembras CD-1 alrededor de 6-8 semanas de edad. Los animales fueron alimentados con comida regular con un mantenimiento estándar. Los animales se pesaron antes de la administración de la dosis. Las
15 formulaciones de TSS y LNP se administraron por vía intravenosa mediante inyección en la vena de la cola con una dosis de 0,03 mpk. Los animales fueron observados periódicamente para detectar efectos adversos durante al menos 24 horas después de la administración de la dosis. Catorce días después del tratamiento, se sometió a los animales a eutanasia mediante punción cardíaca con isoflurano como anestesia y se recogió tejido hepático para su análisis posterior.

20 [00703] Los niveles de TTR en suero que se muestran en la Tabla 44 y la Fig. 39 se produjeron usando ELISA de TTR en suero – ELISA de prealbúmina (Aviva Systems; cat n.º OKIA00111) de acuerdo con el protocolo del fabricante para todos los grupos experimentales y se compararon con el control negativo (TSS).

Tabla 44. Niveles séricos de TTR (ug/mL).

ID de guía	TTR en suero (ug/mL)	SD	% de TSS	N
TSS	673,7	44,13	100	5
G021536	378,2	83,0	56,1	7
G029377	419,3	83,5	62,2	9
G029384	270,1	63,90	40,1	4
G029392	375,4	58,23	55,7	4
G029391	509,1	115,3	75,6	4
G029390	623,2	144,3	92,5	4

[00704] Se colectaron muestras por punción hepáticas con un peso de entre 5 y 15 mg para el aislamiento del ADN genómico. El ADN genómico se extrajo utilizando un kit de aislamiento de ADN (ZymoResearch, D3012) y las muestras se analizaron con secuenciación NGS, como se describe en el ejemplo 1. La eficacia de edición de las LNP que contienen los ARNg indicados se muestra en la Tabla 45 y se ilustra en la FIG. 40.

Tabla 45. Porcentaje medio de indeles en el locus TTR en muestras de hígado de ratón

Guía	% medio de edición	SD	N
TSS	0,1	0	5
G021536	27,2	4,58	7
G029377	25,7	6,77	9
G029384	34,9	4,05	4
G029392	20,9	6,14	4
G029391	5,4	2,60	4
G029390	5,5	3,66	4

Ejemplo 22. Curva de respuesta a la dosis para ARNg de NmeCas9 en PMH con Nme2Cas9

[00705] La eficacia de edición de las ARNg modificados se evaluó con construcciones de Nme2Cas9 en hepatocitos primarios de ratón (PMH). Todos los ARNgu de Nme evaluados comprendieron la misma secuencia objetivo de 24 nucleótidos guía que se dirigen al gen TTR de ratón (mTTR).

[00706] Se descongelaron PMH (Gibco, lote MC931) y se resuspendieron en medio de descongelación de hepatocitos seguido de centrifugación. El sobrenadante se descartó y las células sedimentadas se resuspendieron en medio de cultivo de hepatocitos (medio William's E (Gibco, Cat. A12176-01)) con suplementos de cultivo de dexametasona + suplemento de cóctel (Gibco, Cat. A15563, lote 2459010) y contenido de FBS (Gibco, Cat. A13450, Lote 2486425). Las células se contaron y se sembraron en placas de 96 pocillos recubiertas con colágeno Bio-coat I (Corning, Ref 356407, lote 08722018) a una concentración de 15 000 células/pocillo. Se dejó que las células colocadas en placas se asentaran y se adhirieran durante 4-6 horas en una incubadora de cultivo tisular a 37 °C y atmósfera de CO2 al 5%. Después de la incubación, se verificó la formación de monocapas en las células y se lavaron una vez con medio de mantenimiento de hepatocitos (medio E de William) con suplemento de medio de cultivo (Gibco, Cat. A15564, lote 2459014).

[00707] Las LNP se prepararon en general como se describe en el Ejemplo 1 con una carga de 1:2 en peso de ARNg con respecto a ARNm O. Las LNP utilizadas se prepararon con una relación molar de Lípido A al 50 %, colesterol al 38 %, DSPC al 9 % y PEG2k-DMG al 3 %. Los LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N:P) de 6. Cada LNP se aplicó a las células utilizando una dilución en serie triple de 8 puntos en 3 veces comenzando con 450 ng de carga total por pocillo de 100 µl en la parte superior. dosis (300 ng de ARNm O y ARNg de 46,5 nM (alrededor de 150 ng de ARNg)) como se muestra en la Tabla 46. Tras el tratamiento con LNP, las células se incubaron durante 24 horas a 37 °C en medio William's E con suplemento de medio de siembra (Gibco, Cat. A15564, lote 2459014) y suero bovino fetal al 3 %. Después de 72 horas, las células se recolectaron y analizaron mediante NGS como se describe en el Ejemplo 1.

[00708] La eficacia de edición para LNP que contienen los ARNg indicados, y el EC50 correspondiente para cada uno, se muestran en la Tabla 46 y se ilustran en la FIG. 41.

Tabla 46. Porcentaje medio de indeles en el locus TTR en hepatocitos de ratón primarios

Guía	% indeles	ARNg nM								EC50 (nM ARNg)
		46,5	15,5	5,1	1,7	0,5	0,19	0,064	0,02	
G021536	Media	97,20	97,83	97,73	96,75	95,55	83,83	48,33	15,53	0,071
	SD	0,63	0,25	0,45	1,70	0,50	2,17	4,99	0,90	
	N	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	
G029377	Media	96,65	96,68	96,90	96,73	93,63	83,65	46,88	16,73	0,075
	SD	0,82	1,42	1,04	0,59	2,40	1,92	3,14	1,05	
	N	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	
G029380	Media	95,90	97,00	96,08	95,55	88,38	62,00	22,85	5,38	0,136
	SD	2,27	0,99	1,23	1,28	2,04	0,84	1,47	1,05	
	N	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	
G029379	Media	97,13	96,75	96,43	95,20	90,65	62,20	22,00	5,33	0,139
	SD	0,49	1,33	1,11	1,16	1,61	1,47	1,64	0,43	
	N	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	
G029378	Media	95,88	97,00	96,05	94,90	87,05	53,03	16,28	3,40	0,172
	SD	1,54	0,94	1,15	1,56	2,00	2,00	1,37	0,86	
	N	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	
G029381	Media	97,08	96,05	96,65	95,50	87,90	52,28	16,83	3,40	0,175
	SD	0,82	1,95	0,93	0,94	1,71	3,03	2,35	0,48	
	N	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	

Ejemplo 23. Curva de respuesta a la dosis para ARNg de NmeCas9 en PMH con Nme2Cas9

[00709] La eficacia de edición de los ARNg modificados se evaluaron con la construcción de Nme2Cas9 en hepatocitos de ratón primarios (PMH). Todos los ARNgu evaluados comprendieron la misma secuencia guía de 24 nucleótidos que se dirige al gen TTR de ratón (mTTR).

5 [00710] Se descongelaron PMH (Gibco, lote MC931) y se resuspendieron en medio de descongelación de hepatocitos seguido de centrifugación. El sobrenadante se descartó y las células sedimentadas se resuspendieron en medio de cultivo de hepatocitos (medio William's E (Gibco, Cat. A12176-01)) con suplementos de cultivo de dexametasona + suplemento de cóctel (Gibco, Cat. A15563, lote 2459010) y contenido de FBS (Gibco , Cat. A13450, Lote 2486425). Las células se contaron y se sembraron en placas de 96 pocillos recubiertas con colágeno Bio-coat I (Corning, Ref 356407, lote 08722018) a una concentración de 15 000 células/pocillo. Se permitió que las células colocadas en placas se asentaran y se adhirieran durante 4-6 horas en una incubadora de cultivo tisular a 37 °C y atmósfera de CO2 al 5 %. Después de la incubación, se verificó la formación de monocapas en las células y se lavaron una vez con medio de mantenimiento de hepatocitos (medio E de William) con
10
15 suplemento de medio de cultivo (Gibco, Cat. A15564, lote 2459014).

[00711] Las LNP se prepararon en general como se describe en el Ejemplo 1 con una carga de 1:2 en peso de ARNg con respecto a ARNm O. Las LNP utilizadas se prepararon con una relación molar de Lípido A al 50 %, colesterol al 38 %, DSPC al 9 % y PEG2k-DMG al 3 %. Los LNP se formularon con una relación molar de amina lipídica a fosfato de ARN (N:P) de 6. Cada LNP se aplicó a las células
20 utilizando una dilución en serie triple de 8 puntos en 3 veces comenzando con 450 ng de carga total por pocillo de 100 µl en la parte superior. dosis (300 ng de ARNm O y ARNg de 46,5 nM (es decir, 150 ng de ARNg)) como se muestra en la Tabla 47. Tras el tratamiento con LNP, las células se incubaron

Tabla 47. Porcentaje medio de indeles en el locus TTR en hepatocitos primarios de ratón.

[illegible]

G029390	Media	96,00	95,40	94,60	93,07	77,60	42,13	11,70	2,20	0,219
	SD	1,49	3,49	3,97	2,97	2,29	4,10	2,49	0,70	
	N	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	

Ejemplo 24. Modalidades adicionales

[00713] Los siguientes elementos numerados proporcionan apoyo adicional y descripciones de las modalidades aquí descritas.

[00714] El elemento 1 es un ARN guía (ARNg) que comprende una región guía y una región conservada, la región conservada comprende uno o más de:

(a) una región de repetición/antirrepetición acortada, en donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 37-48 y 53-64 y se sustituyen opcionalmente uno o más de los nucleótidos 37-64 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 36 está unido al nucleótido 65 mediante al menos 2 nucleótidos; o

(b) una región de horquilla 1 acortada, en donde la horquilla 1 acortada carece de 2-10, opcionalmente, 2-8 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 82-86 y 91-95 y se sustituyen opcionalmente una o más posiciones 82-96 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 81 está unido al nucleótido 96 mediante al menos 4 nucleótidos; o

(c) una región de horquilla 2 acortada, en donde la horquilla 2 acortada carece de 2-18, opcionalmente, 2-16 nucleótidos, en donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 113-121 y 126-134 y se sustituyen opcionalmente uno o más nucleótidos 113-134 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 112 está unido al nucleótido 135 mediante al menos 4 nucleótidos;

en donde se eliminan opcionalmente uno o ambos de los nucleótidos 144-145 con respecto a la SEQ ID NO: 500;

donde al menos 10 nucleótidos son nucleótidos modificados.

[00715] El Elemento 2 es el ARNg del Elemento 1, donde el ARNg es un ARN de guía único (ARNgu) y donde el ARNg comprende (a) una región repetitiva/antirrepetición acortada, donde la región repetitiva/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos, donde

(i) se eliminan uno o más de los nucleótidos 37-48 y 53-64 y se sustituyen opcionalmente uno o más de los nucleótidos 37-64 con respecto a la SEQ ID NO: 500; y

(ii) el nucleótido 36 se une al nucleótido 65 mediante al menos 2 nucleótidos.

[00716] El Elemento 3 es el ARNg del Elemento 1 o 2, en donde la región guía tiene (i) una inserción de un nucleótido o una eliminación de 1-4 nucleótidos entre las posiciones 1-24 con respecto a la SEQ ID NO: 500 o (ii) una longitud de 24 nucleótidos.

[00717] El Elemento 4 es el ARNg del Elemento inmediatamente anterior, donde la región guía tiene una longitud de 25, 24, 23, 22, 21 o 20 nucleótidos, opcionalmente donde la región guía tiene una longitud de 25, 24, 23 o 22, respectivamente.

[00718] El Elemento 5 es el ARNg del Elemento inmediatamente anterior, donde la región guía tiene una longitud de 23-24 nucleótidos.

[00719] El Elemento 6 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde el ARNg comprende adicionalmente una cola 3'.

[00720] El Elemento 7 es el ARNg del Elemento inmediatamente anterior, donde la cola de 3' comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 nucleótidos.

[00721] El Elemento 8 es el ARNg del Elemento inmediatamente anterior, donde la cola 3'

comprende 1, 2, 3, 4 o 5 nucleótidos.

[00722] El Elemento 9 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 6-8, donde la cola 3' termina con un nucleótido que comprende un uracilo o un uracilo modificado.

5 [00723] El Elemento 10 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 6-9, donde la cola 3' tiene 1 nucleótido de longitud.

[00724] El Elemento 11 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 6-10, donde la cola 3' consiste en un nucleótido que comprende un uracilo o un uracilo modificado.

[00725] El Elemento 12 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 6-11, donde la cola 3' comprende una modificación de cualquiera uno o más de los nucleótidos presentes en la cola 3'.

10 [00726] El Elemento 13 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 6-12, donde la modificación de la cola 3' es uno o más de nucleótidos modificados con 2'-O-metilo (2'-OMe) y un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00727] El Elemento 14 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores 6-13, donde la cola 3' está totalmente modificada.

15 [00728] El Elemento 15 es el ARNg de cualquiera de los Elementos inmediatamente anteriores, donde el nucleótido 3' del ARNg es un nucleótido que comprende un uracilo o un uracilo modificado.

[00729] El Elemento 16 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 1-5, en donde uno o más de los nucleótidos 144 y 145 se eliminan con relación a la SEQ ID NO: 500.

20 [00730] El Elemento 17 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 1-5, donde se eliminan ambos nucleótidos 144 y 145 con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00731] El Elemento 18 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 1-5, donde el ARNg no comprende una cola 3'.

[00732] El Elemento 19 es el ARNg de cualquiera de los elementos anteriores, en donde la región de repetición/antirrepetición acortada carece de 2-24 nucleótidos.

25 [00733] El Elemento 20 es el ARNg de cualquiera de los elementos anteriores, donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 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.

[00734] El Elemento 21 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde la región de repetición/antirrepetición carece de 12-24, opcionalmente, 18-24 nucleótidos, opcionalmente 20-22
30 nucleótidos.

[00735] El Elemento 22 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos.

35 [00736] El Elemento 23 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una longitud de 28, 29, 30, 31, 32, 33 o 34 nucleótidos, o 30, 31 o 32 nucleótidos.

[00737] El Elemento 24 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde los nucleótidos 37-64 de la SEQ ID NO: 500 forman el tallo superior y se eliminan uno o más pares de bases del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada.

40 [00738] El Elemento 25 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde el tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada comprende no más de uno, dos, tres o cuatro pares de bases.

[00739] El Elemento 26 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde se eliminan todas las posiciones 39-48 y todas las posiciones 53-62 del tallo superior de la región de
45 repetición/antirrepetición acortada y, opcionalmente, se sustituyen los nucleótidos 38 o 63.

- [00740] El Elemento 27 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde se eliminan todas las posiciones 38-48 y todas las posiciones 53-63 del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada y, opcionalmente, se sustituye el nucleótido 37 o 64.
- [00741] El Elemento 28 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde se eliminan todos los nucleótidos 37-48 y 53-64 del tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada y, opcionalmente, se sustituye el nucleótido 36 o 65.
- [00742] El Elemento 29 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una parte de dúplex de 11 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.
- [00743] El Elemento 30 es el ARNg de una cualquiera de los Elementos anteriores, donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene una única parte dúplex.
- [00744] El Elemento 31 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde el tallo superior de la región de repetición/antirrepetición acortada incluye una o más sustituciones con respecto a la SEQ ID NO: 500.
- [00745] El elemento 32 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde uno o más de los nucleótidos 49-52 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500.
- [00746] El Elemento 33 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en el que la región repetida/antirrepetición acortada no está sustituida.
- [00747] El Elemento 34 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de repetición/antirrepetición acortada tiene 12-22 nucleótidos modificados.
- [00748] El Elemento 35 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de horquilla 1 acortada carece de 2-10, opcionalmente de 2-8 o 2-4 nucleótidos.
- [00749] El Elemento 36 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de horquilla 1 acortada tiene una longitud de 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 nucleótidos.
- [00750] El Elemento 37 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de horquilla 1 acortada tiene una parte de dúplex de 4-8, opcionalmente, de 7-8, nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.
- [00751] El Elemento 38 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de horquilla 1 acortada tiene una parte de dúplex simple.
- [00752] El Elemento 39 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde se eliminan uno o dos pares de bases de la región de horquilla 1 acortada.
- [00753] El Elemento 40 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde el tallo de la región de horquilla 1 acortada tiene una longitud de siete u ocho nucleótidos con emparejamiento de bases.
- [00754] El Elemento 41 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde se eliminan una o más posiciones 85-86 y uno o más de los nucleótidos 91-92 de la región de horquilla 1 acortada.
- [00755] El Elemento 42 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde se eliminan los nucleótidos 86 y 91 o los nucleótidos 85 y 92 de la región de horquilla 1 acortada.
- [00756] El Elemento 43 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde uno o más de los nucleótidos 82-95 de la región de horquilla 1 acortada se sustituye con respecto a la SEQ ID NO: 500.
- [00757] El Elemento 44 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde uno o más de los nucleótidos 87-90 se sustituye con respecto a la SEQ ID NO: 500.
- [00758] El elemento 45 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en el que la región

de horquilla 1 acortada no está sustituida.

[00759] El Elemento 46 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de horquilla 1 acortada tiene 6-15 nucleótidos modificados.

[00760] El Elemento 47 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de horquilla 2 acortada carece de 2-18, opcionalmente de 2-16, nucleótidos.

[00761] El Elemento 48 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de horquilla 2 acortada tiene una longitud de 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos.

[00762] El Elemento 49 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de horquilla 2 acortada tiene una longitud de 28, 29, 30, 31, 32, 33 o 34 nucleótidos.

[00763] El Elemento 50 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde se eliminan una o más posiciones 113-121 y uno o más de los nucleótidos 126-134 de la región de horquilla 2 acortada.

[00764] El Elemento 51 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región horquilla 2 acortada comprende una región no emparejada.

[00765] El Elemento 52 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de horquilla 2 acortada tiene dos partes de dúplex.

[00766] El Elemento 53 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de horquilla 2 acortada tiene una porción dúplex de 4 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.

[00767] El Elemento 54 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 52-53, en donde la región de horquilla 2 acortada tiene una parte de dúplex de 4-8 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.

[00768] El Elemento 55 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 52-54, en donde la región de horquilla 2 acortada tiene una parte de dúplex de 4-6 nucleótidos con emparejamiento de bases de longitud.

[00769] El Elemento 56 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde los nucleótidos 113-134 de la SEQ ID NO: 500 forman el tallo superior, y el tallo superior de la región de horquilla acortada 2 comprende uno, dos, tres o cuatro pares de bases.

[00770] El Elemento 57 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde se elimina al menos un par de nucleótidos 113 y 134, nucleótidos 114 y 133, nucleótidos 115 y 132, nucleótidos 116 y 131, nucleótidos 117 y 130, nucleótidos 118 y 129, los nucleótidos 119 y 128, los nucleótidos 120 y 127 y los nucleótidos 121 y 126.

[00771] El Elemento 58 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde se eliminan todas las posiciones 113-121 y 126-134 de la región de horquilla 2 acortada.

[00772] El Elemento 59 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde uno o más de los nucleótidos 113-134 de la región de horquilla 2 acortada se sustituye con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00773] El elemento 60 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde uno o más de los nucleótidos 122-125 se sustituyen con respecto a la SEQ ID NO: 500.

[00774] El Elemento 61 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde la región de horquilla 2 acortada no se encuentra sustituida.

[00775] El Elemento 62 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región de horquilla 2 acortada tiene 6-15 nucleótidos modificados.

[00776] El Elemento 63 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde la región

guía del ARNg comprende al menos dos nucleótidos modificados, opcionalmente al menos cuatro nucleótidos modificados.

[00777] El Elemento 64 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde la región guía del ARNg comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 nucleótidos modificados, opcionalmente 1, 2 o 3 nucleótidos modificados.

[00778] El Elemento 65 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región guía del ARNg comprende 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 nucleótidos modificados.

[00779] El Elemento 66 es el ARNg de cualquiera de Elementos anteriores, en donde la región guía del ARNg comprende 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 nucleótidos modificados.

[00780] El Elemento 67 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la región guía no comprende un nucleótido modificado en 3' de los primeros tres nucleótidos de la región guía.

[00781] El Elemento 68 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde la región guía no comprende un nucleótido modificado.

[00782] El Elemento 69 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde el ARNg comprende una modificación de extremo 5'.

[00783] El Elemento 70 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde el ARNg comprende una modificación de extremo 3'.

[00784] El Elemento 71 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde el ARNg comprende una modificación de extremo 5' y una modificación de extremo 3'.

[00785] El Elemento 72 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición.

[00786] El Elemento 73 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en la región de horquilla 1.

[00787] El Elemento 74 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en la región de horquilla 2.

[00788] El Elemento 75 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en el extremo 3', y que comprende una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición.

[00789] El Elementos 76 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en el extremo 3', y una modificación en la región de horquilla 1.

[00790] El Elemento 77 es el ARNg de cualquiera de los Elementos precedentes, que comprende una modificación en el extremo 3', y una modificación en la región de horquilla 2.

[00791] El Elemento 78 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en el extremo 5' y que comprende una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición.

[00792] El Elemento 79 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en el extremo 5', y una modificación en la región de horquilla 1.

[00793] El Elemento 80 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en el extremo 5', y una modificación en la región de horquilla 2.

[00794] El Elemento 81 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en el extremo 5', una modificación en la región de tallo superior de la región de repetición/antirrepetición y una modificación en el extremo 3'.

[00795] El Elemento 82 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en el extremo 5', una modificación en la región de horquilla 1 y una modificación en el extremo 3'.

[00796] El Elemento 83 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en el extremo 5', una modificación en la región de horquilla 1, una modificación en la región de horquilla 2 y una modificación en el extremo 3'.

[00797] El Elemento 84 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una modificación en el extremo 5', una modificación en la región de repetición/antirrepetición, una modificación en la región de horquilla 1, una modificación en la región de horquilla 2 y una modificación en el extremo 3'.

[00798] El Elemento 85 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 69-84, donde la modificación en el extremo 5' comprende un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, o un nucleótido abásico invertido modificado.

[00799] El Elemento 86 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 69-85, donde la modificación en el extremo 3' comprende un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos, o un nucleótido abásico invertido modificado.

[00800] El Elemento 87 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 69-86, donde la modificación en el extremo 5' comprende cualquiera de:

- i. una modificación de cualquiera de uno o más de los primeros 1, 2, 3 o 4 nucleótidos;
- ii. un nucleótido modificado;
- iii. dos nucleótidos modificados;
- iv. tres nucleótidos modificados; y
- v. cuatro nucleótidos modificados.

[00801] El Elemento 88 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 69-87, donde la modificación en el extremo 5' comprende una o más de:

- i. un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos;
- ii. un nucleótido modificado con 2'-OMe;
- iii. un nucleótido modificado con 2'-O-moe;
- iv. un nucleótido modificado con 2'-F; y
- v. un nucleótido modificado abásico invertido.

[00802] El Elemento 89 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 69-88, donde la modificación en el extremo 3' comprende cualquiera de:

- i. una modificación de uno o más de los últimos 4, 3, 2 o 1 nucleótidos;
- ii. un nucleótido modificado;
- iii. dos nucleótidos modificados;
- iv. tres nucleótidos modificados; y
- v. cuatro nucleótidos modificados.

[00803] El Elemento 90 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 69-89, donde la modificación en el extremo 3' comprende una o más de:

- i. un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos;
- ii. un nucleótido modificado con 2'-OMe;
- iii. un nucleótido modificado con 2'-O-moe;
- iv. un nucleótido modificado con 2'-F; y
- v. un nucleótido modificado abásico invertido.

[00804] El Elemento 91 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 69-90, donde la modificación de extremo 5' comprende al menos un enlace de PS y donde uno o más de:

- i. hay un enlace de PS y el enlace es entre el primer y el segundo nucleótidos;
- ii. hay dos enlaces de PS entre los primeros tres nucleótidos;
- 5 iii. hay enlaces de PS entre cualesquiera uno o más de los primeros cuatro nucleótidos; y
- iv. hay enlaces de PS entre cualesquiera uno o más de los últimos cinco nucleótidos.

[00805] El Elemento 92 es el ARNg del Elemento 91, donde la modificación en el extremo 5' comprende adicionalmente al menos un nucleótido modificado con 2'-OMe, 2'-O-moe, abásico invertido, o 2'-F.

10 [00806] El Elemento 93 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la modificación en el extremo 5' comprende:

- i. una modificación de uno o más de los primeros 1-4 nucleótidos, en donde la modificación es un enlace de PS, un nucleótido abásico invertido, 2'-OMe, 2'-O-moe o 2'-F;
- ii. una modificación del primer nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estas, y uno
- 15 o dos enlaces de PS opcionales al nucleótido siguiente o el primer nucleótido de la cola 3';
- iii. una modificación del primer o segundo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS;
- iv. una modificación del primer, segundo o tercer nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS; o
- 20 v. una modificación del primer, segundo, tercer o cuarto nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS.

[00807] El Elemento 94 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la modificación de extremo 3' comprende al menos un enlace de PS y en donde uno o más de:

- i. hay un enlace de PS y el enlace es entre el último y el penúltimo nucleótidos;
- 25 ii. hay dos enlaces de PS entre los últimos tres nucleótidos y
- iii. hay enlaces de PS entre cualesquiera uno o más de los últimos cuatro nucleótidos.

[00808] El Elemento 95 es el ARNg del Elemento 94, donde la modificación en el extremo 3' comprende adicionalmente al menos un nucleótido modificado con 2'-OMe, 2'-O-moe, abásico invertido, o 2'-F.

30 [00809] El Elemento 96 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la modificación en el extremo 3' comprende:

- i. una modificación de uno o más de los últimos 1-4 nucleótidos, en donde la modificación es un enlace de PS, un nucleótido abásico invertido, 2'-OMe, 2'-O-moe o 2'-F;
- ii. una modificación del último nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F o combinaciones de estas, y uno o
- 35 dos enlaces de PS opcionales al nucleótido siguiente o el primer nucleótido de la cola 3';
- iii. una modificación del último o penúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS;
- iv. una modificación del último, penúltimo o antepenúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS; o
- 40 v. una modificación del último, penúltimo, antepenúltimo o anterior al antepenúltimo nucleótido con 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F, y opcionalmente uno o más enlaces de PS.

[00810] El Elemento 97 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la modificación en la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1 o la región de horquilla 2 comprende un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-

45

fluoro (2'-F), un enlace fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00811] El Elemento 98 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la modificación en la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1 o la región de horquilla 2 comprende un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00812] El Elemento 99 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde la modificación en la región de repetición/antirrepetición, la región de horquilla 1 o la región de horquilla 2 comprende un nucleótido modificado seleccionado de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos.

[00813] El Elemento 100 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde al menos el 20 %, 30 %, 40 % o 50 % de los nucleótidos son nucleótidos modificados.

[00814] El Elemento 101 es el ARNg del Elemento 100, donde el ARNg comprende nucleótidos modificados seleccionados de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), nucleótido modificado con 2'-O-(2-metoxietil) (2'-O-moe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos o combinaciones de estos.

[00815] El Elemento 102 es el ARNg del Elemento 100 o 101 que comprende nucleótidos modificados seleccionados de un nucleótido modificado con 2'-O-metilo (2'-OMe), un nucleótido modificado con 2'-fluoro (2'-F), un enlace de fosforotioato (PS) entre nucleótidos o combinaciones de estos.

[00816] El Elemento 103 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde los nucleótidos 1-3 de la región guía son modificados y los nucleótidos en la región guía diferentes a los nucleótidos 1-3 no se encuentran modificados.

[00817] El Elemento 104 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde una cola 3' del nucleótido 144 está presente en el ARNg y comprende nucleótidos modificados con 2'-O-Me en los nucleótidos 141-144 y dos enlaces de PS entre los nucleótidos 141-142 y 142-143, respectivamente.

[00818] El Elemento 105 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde se sustituye una o más posiciones de 49-52, 87-90 o 122-125.

[00819] El Elemento 106 es un ARN guía único (ARNgu) que comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 1-9.

[00820] El Elemento 107 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 o 70 % de identidad con la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-9

[00821] El Elemento 108 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 o 70 % de identidad con la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-9, donde la modificación en cada nucleótido del ARNg que corresponde a un nucleótido del identificador de secuencia de referencia en la Tabla 1 es idéntico a o equivalente a la modificación mostrada en el identificador de secuencia de referencia en la Tabla 2.

[00822] El Elemento 109 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91 o 90 % de identidad con respecto a la secuencia de X al extremo 3' de la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-5, 7, 8, 101-291 y 301-494, donde X es el primer nucleótido de la región conservada.

[00823] El Elemento 110 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 106-109, que comprende adicionalmente una cola 3' que comprende un nucleótido modificado con 2'-O-Me.

[00824] El Elemento 111 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, donde el ARNg dirige una nucleasa hacia una secuencia objetivo para la unión.

[00825] El Elemento 112 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde el ARNg dirige una nucleasa hacia una secuencia objetivo para inducir un corte bicatenario en la secuencia objetivo.

[00826] El Elemento 113 es el ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, en donde el ARNg dirige una nucleasa hacia una secuencia objetivo para inducir un corte monocatenario en la secuencia objetivo.

[00827] El Elemento 114 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 111-113, donde la nucleasa es una Nme Cas9.

[00828] El Elemento 115 es el ARNg de cualquiera de los elementos anteriores, donde el ARNg comprende una sustitución conservadora, opcionalmente en el que la sustitución conservadora mantiene al menos un par de bases.

[00829] El Elemento 116 es una composición que comprende un ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores, relacionado con una nanopartícula lipídica (LNP).

[00830] El Elemento 117 es una composición de LNP que comprende un ARNg de cualquiera de los Elementos anteriores.

[00831] El Elemento 118 es una composición que comprende el ARNg de cualquiera de los Elementos 1-115, o la composición de cualquiera de los Elementos 116-117, que comprende adicionalmente una nucleasa o un ARNm que codifica la nucleasa.

[00832] El elemento 119 es la composición del Elemento 118, en donde la nucleasa es una proteína Cas.

[00833] El Elemento 120 es la composición del elemento 119, donde la proteína Cas es una Nme Cas9.

[00834] El Elemento 121 es la composición del Elemento 120, donde la Nme Cas9 es una Nme1 Cas9, una Nme2 Cas9 o una Nme3 Cas9.

[00835] El Elemento 122 es la composición de cualquiera de los artículos 118-121, donde la nucleasa tiene una actividad de escisión bicatenaria.

[00836] El Elemento 123 es la composición de cualquiera de los Elementos 118-122, donde la nucleasa tiene actividad nicasa.

[00837] El Elemento 124 es la composición de cualquiera de los Elementos 118-123, donde la nucleasa tiene un dominio de unión a ADN dCas.

[00838] El Elemento 125 es la composición de cualquiera de los Elementos 118-124, en donde la nucleasa es modificada.

[00839] El Elemento 126 es la composición del Elemento 125, donde la nucleasa modificada comprende un dominio funcional heterólogo.

[00840] El Elemento 127 es la composición del Elemento 126, donde el dominio funcional heterólogo es una desaminasa.

[00841] El Elemento 128 es la composición del Elemento 127, que comprende además una UGI o un ARNm que codifica una UGI.

[00842] El Elemento 129 es la composición de cualquiera de los Elementos 127-128, donde el dominio funcional heterólogo es una citidina desaminasa.

[00843] El Elemento 130 es la composición del Elemento 125-129, en donde la nucleasa modificada comprende una señal de localización nuclear (NLS).

[00844] El Elemento 131 es la composición de cualquiera de los Elementos 118-130, que

comprende un ARNm que codifica la nucleasa.

[00845] El Elemento 132 es la composición del elemento 131, en donde el ARNm comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 636-638.

5 [00846] El Elemento 133 es una formulación farmacéutica que comprende el ARNg de cualquiera de los Elementos 1-115, o la composición de cualquiera de los Elementos 116-132 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[00847] El Elemento 134 es un método de modificación de un ADN objetivo que comprende administrarle una proteína Cas o un ácido nucleico que codifica una proteína Cas y cualquiera de uno o más de los siguientes a una célula:

- 10 i. el ARNg de cualquiera de los elementos 1-115
ii. la composición de cualquiera de los elementos 116-132; y
iii. la formulación farmacéutica del elemento 133.

[00848] El Elemento 135 es el método del Elemento 134, donde el método tiene como resultado una inserción en un gen.

15 [00849] El Elemento 136 es el método del artículo 134 o 135, donde el método tiene como resultado al menos una edición base.

[00850] El Elemento 137 es el método de cualquiera de los Elementos 134-136, que también comprende administrar a la célula una plantilla, en donde al menos una parte de la plantilla se incorpora en un ADN objetivo en un sitio de ruptura bicatenaria inducido por la proteína Cas o cerca de este.

20 [00851] El Elemento 138 es el ARNg de cualquiera de los Elementos 1-115, la composición de los Elementos 116-132, o la formulación farmacéutica del Elemento 133 para su uso en la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad o trastorno.

[00852] El Elemento 139 es el uso del ARNg de cualquiera de los Elementos 1-115, las composiciones de los Elementos 116-132 o la formulación farmacéutica del Elemento 133 en la
25 fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o trastorno.